UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

ANNEE [illegible]-1952. — N. [illegible] 366

ÉTUDE
SUR
LA SOUCHE REITER

Son utilisation dans le diagnostic de la Syphilis

Travail effectué au Laboratoire de Sérologie
de la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux
Professeur : P. JOULIA

THESE POUR LE DOCTORAT EN PHARMACIE (Université)

Présentée et soutenue publiquement le Lundi 30 Juin 1952

PAR

André GIMENEZ

PHARMACIEN

Né à MAZAGAN (MAROC) le 30 Juillet 1926

MEMBRES DU JURY :

MM.	SIGALAS, Professeur	Président
	TAYEAU, Professeur	Juge
	MESNARD, Professeur	»
	PAUTRIZEL, Maître de Conférences, Agrégé	»

PARIS
MAURICE LAVERGNE, IMPRIMEUR
289, RUE SAINT-JACQUES

1955

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

Doyens Honoraires : MM. Dupérié, Chelle, G. Portmann
Doyen : M. Sigalas. — **Assesseur :** M. Tayeau

Professeurs Honoraires :

MM. A. Mandoul, Anderodias, Rocher, Lande, Duvergey, Carles, Leuret, Péry, Charrier, Dubreuil, Cruchet, Perrens

Professeurs :

	MM.
Clinique médicale	N
»	BROUSTET.
Clinique chirurgicale	PAPIN.
»	MASSE.
Clinique d'accouchements	M. RIVIERE.
Clinique gynécologique	MAGENDIE.
Anatomie pathologique et microscopie clinique	DE GRAILLY.
Anatomie	DUFOUR.
Anatomie générale et histologie	MAYER.
Hygiène et Clinique de la tuberculose	PIECHAUD.
Médecine légale et médecine du travail	DERVILLE.
Electroradiologie et clinique d'électricité médicale	REBOUL.
Chimie	MESNARD.
Matière médicale	J. GOLSE.
Pharmacie	VITTE
Physiologie	FABRE.
Clinique médicale des maladies des enfants	FONTAN.
Zoologie et parasitologie	SIGALAS.
Pathologie générale et expérimentale	SARIC.
Clinique ophtalmologique	N.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	POUYANNE.
Clinique médicale et des maladies infectieuses	AUBERTIN.
Chimie biologique et médicale	TAYEAU.
Physique médicale et pharmaceutique	PIFFAULT.
Médecine coloniale et Clinique des maladies exotiques	BONNIN.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JOULIA.
Clinique des maladies des voies urinaires	DARGET.
Clinique des maladies nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET
Clinique d'oto-rhino-laryngol.	G PORTMANN
Toxicologie et hygiène appliquée	CASTAGNE
Clinique odonto-stomatologiq.	DUBECQ.
Botanique et cryptogamie	GIRARD.
Thérapeutique	F.J. TRAISSAC
Hydrologie thérapeutique et climatologie	DUBARRY.

Professeur à titre personnel :

M. BLANQUET (Section Pharmacie)

Professeurs sans chaire :

MM. MAHON (Obstétrique), PAUTRIZEL (Parasitologie), Mlle ROUGIER (Physiologie), M. MOUSTARDIER (Bactériologie)

Maîtres de Conférences Agrégés :

	MM.
Anatomie pathologique	LEGER.
Anatomie	RIGAUD.
»	CABANIE.
Biochimie médicale	NEUZIL.
Pathologie expérimentale	FAURE.
Physique médicale	DUHAMEL.
Pharmacie (1re Section)	R GOLSE.
»	ROMAIN.
Pharmacie (2e Section)	MASQUELIER.
»	QUELCHIN.
Pharmacie (3e Section)	CAZAUX.

Chargé des fonctions de Maître de Conférences Agrégé :

M. STOLL (Histologie)

Agrégés en exercice :

	MM.		MM.
Médecine générale	BERGOUIGNAN	Obstétrique	CHASTRUSSE.
»	LENG-LEVY	»	FAUGERE
»	MORETTI	Ophtalmologie	BESSIERE
»	LAVIGNOLLE	»	CORCELLE
»	MARTIN-DUPONT.	Oto-rhino-laryngologie	DESPONS
»	DAVID-CHAUSSE	»	M. PORTMANN
»	J RIVIERE.	Dermatologie et syphiligraph.	LE COULANT
		Pédiatrie et puériculture	VERGER
		Médecine légale et médecine du travail	I EPEE
Chirurgie générale	LAUMONIER	Electro-radiologie	LACHAPELE
»	CHAVANNAZ	Odonto-stomatologie	BENOIT
»	VILLAR.	Urologie	LANGE
»	TINGAUD	Neurologie et psychiatrie	BLANC
»	DEPAULIS	Pneumo-phtisiologie	FREOUB
»	DARMAILLACQ.		

Cours complémentaires :

	MM.		MM.
Médecine opératoire	LAUMONIER	Zoologie pharmaceutique	BAILENGER
Accouchements	CHASTRUSSE	Physiologie	BENELLI
»	FAUGERE	Toxicologie et Hygiène	Mlle LARCEBAU.
Puériculture	VERGER	Phytopharmacie	CORTESI
»	PERY	Droit médical international	AUBY
Législation pharmaceutique	COUSTOU	Médecine légale	I EPEE
Cryptogamie	LAUBIE	Séméiologie médicale	LAVIGNOLLE
Obstétricie sociale	MAHON	Séméiologie chirurgicale	DEPAULIS
Organographie et physiologie végétale	TEMPERE	Embryologie	STOLL
Chimie biologique analytique	MARQUEVIELLE	Pathologie médicale	BERGOUIGNAN
Chimie analytique	BABIN	»	LEVY
Pathologie chirurgicale	VILLAR	»	MORETTI
»	CHAVANNAZ	»	DAVID-CHAUSSE
»	TINGAUD	»	RIVIERE
»	DARMAILLACQ	»	MARTIN-DUPONT
»	LAPORTE		

Le Secrétaire principal de la Faculté : GAYRAUD

Par délibération du 5 Août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation, ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON FRÈRE

A MES PARENTS

Je dédie ce modeste travail avec toute mon affection.
Leurs conseils seront pour moi un précieux auxiliaire dans la vie.

A MA FAMILLE

A MES AMIS

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur R. SIGALAS

Professeur de Zoologie et de Parasitologie
à la Faculté de Médecne et de Pharmacie de Bordeaux
Directeur honoraire de la Station Biologique d'Arcachon
Chevalier de la Légion d'Honneur
Croix de Guerre
Officier de l'Instruction Publique

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre reconnaissance pour son attitude bienveillante tout au long de nos Etudes Universitaires.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547308_0058

A NOS JUGES

Monsieur le Professeur Agrégé R. PAUTRIZEL

Maître de Conférences.
Agrégé à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux
Docteur ès Sciences
Chef de Laboratoire au Centre de Prophylaxie Antivénérienne
Croix de Guerre
Officier d'Académie
Médecin Délégué à l'Office Mondial de la Santé

Qui nous a inspiré le sujet de cette thèse.

Son attention bienveillante, tout au long de notre passage au Laboratoire, nous a permis de bénéficier de ses conseils et de son expérience, prodigués sans mesure.

Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de notre profonde reconnaissance.

Monsieur le Professeur P. MESNARD

Professeur de Chimie
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux
Officier d'Académie

Dont nous avons suivi l'enseignement avec tout d'intérêt.

Nos sentiments les plus respectueux.

Monsieur le Professeur F. TAYEAU

Professeur de Chimie Biologique et Médicale
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux
Docteur ès Sciences
Officier d'Académie

Qui a bien voulu nous faire le très grand honneur de siéger dans notre jury de thèse.
Avec notre profonde gratitude.

AVANT-PROPOS

Il nous est très agréable, avant de présenter ce travail, de remercier toutes les personnes qui ont contribué, à des titres divers, à la réalisation de cette thèse.

Nous les prions de trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

INTRODUCTION

La syphilis a, depuis très longtemps, donné lieu à de nombreuses recherches. En tant que fléau social, elle connaît une lutte acharnée et se trouve actuellement en nette régression grâce au dépistage systématique et incessant organisé par les Centres intéressés. Cette lutte a nécessité l'emploi de méthodes permettant la mise en évidence de l'organisme spirochétien et le diagnostic de l'infection tréponémique.

C'est tout le problème de la sérologie de la syphilis et des techniques sérologiques. Celles-ci, au cours des années, ont subi des modifications tendant à les rendre simples, sensibles et spécifiques. Actuellement, on peut mesurer l'importance de leur rôle dans :

— le dépistage systématique,

— la surveillance de l'évolution de la maladie au cours du traitement.

L'agent pathogène de l'infection syphilitique (*Treponema pallidum*) s'est révélé peu à peu aux perquisitions scientifiques tant du point de vue morphologique que biologique et pathogénique. C'est ainsi que l'on a pu isoler quelques variétés pathogènes et non pathogènes. Parmi ces dernières, la souche Reiter, par sa culture facile, a été choisie

pour l'étude du Tréponème : cycle évolutif, morphologie et structure antigénique. Cette structure présente, à l'heure actuelle, un intérêt certain. En effet, les derniers travaux tendent à l'emploi d'un antigène aussi près que possible de l'agent pathogène. Le test d'immobilisation des tréponèmes (test de Nelson) utilise le Tréponème pâle pathogène vivant, mais malheureusement il est d'une exécution très délicate et onéreuse. Aussi, s'est-on adressé aux suspensions spirochétiennes de la souche Reiter comme antigène syphilitique et source éventuelle d'un fraction spécifique antigénique qui permette de résoudre le problème de la spécificité dans le diagnostic sérologique de la syphilis. Cette variété avirulente fera l'objet de ce travail dont le plan est le suivant :

A. — *Etude et mise au point sur la souche Reiter.*

1° — Historique,
2° — Morphologie et cycle évolutif,
3° — Culture,
4° — Structure antigénique et réponse de l'organisme humain.

B. — *Utilisation du Tréponème Reiter en sérologie.*

1° — Le problème antigénique,
2° — Définition de la suspension spirochétienne,
3° — Emploi dans le diagnostic de la syphilis.

DOCUMENTS

PHOTOGRAPHIQUES

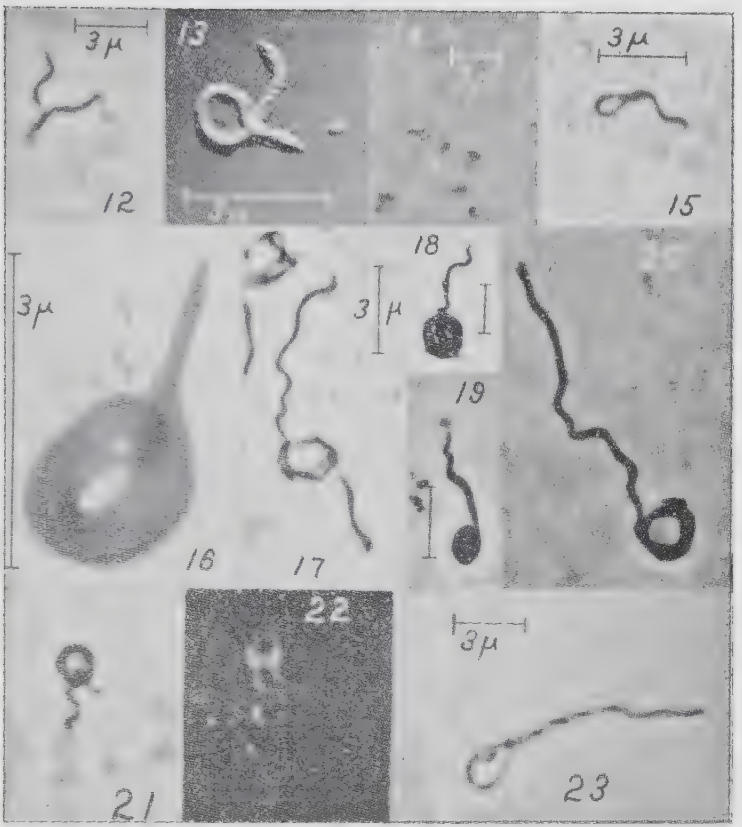


Fig. N° 1

« The morphologic variations of Treponema »

Noel R. Rose, Sc. D. Philadelphia. American Journal of Syphilis, Gonorrhea and Veneral Disease, St-Louis. Vol 36, n° 1 pages 17-37. Janvier 1952

Fig. N° II

« Electron microscope Studies of Treponema ». III. Flagella, (Harry Morton, Philadelph.) Noel R.Rose, A.M.Philadelphia. American Journal of Syphilis, Gonorrhea and Venereal Disea , Saint-Louis. Vol. 35, n° 5, pages 503 506, Novembre 19 ,

Fig. N° III

« Electron microscope Studies of Treponema ». III. Flagella. Harry Morton. Philadelph. Noel R. Rose, A.M. Philadelphia. American Journal of Syphilis, Gonorrhea and Veneral Disease. Saint-Louis. Vol. 35. n° 6. pages 503-516. Novembre 1951.

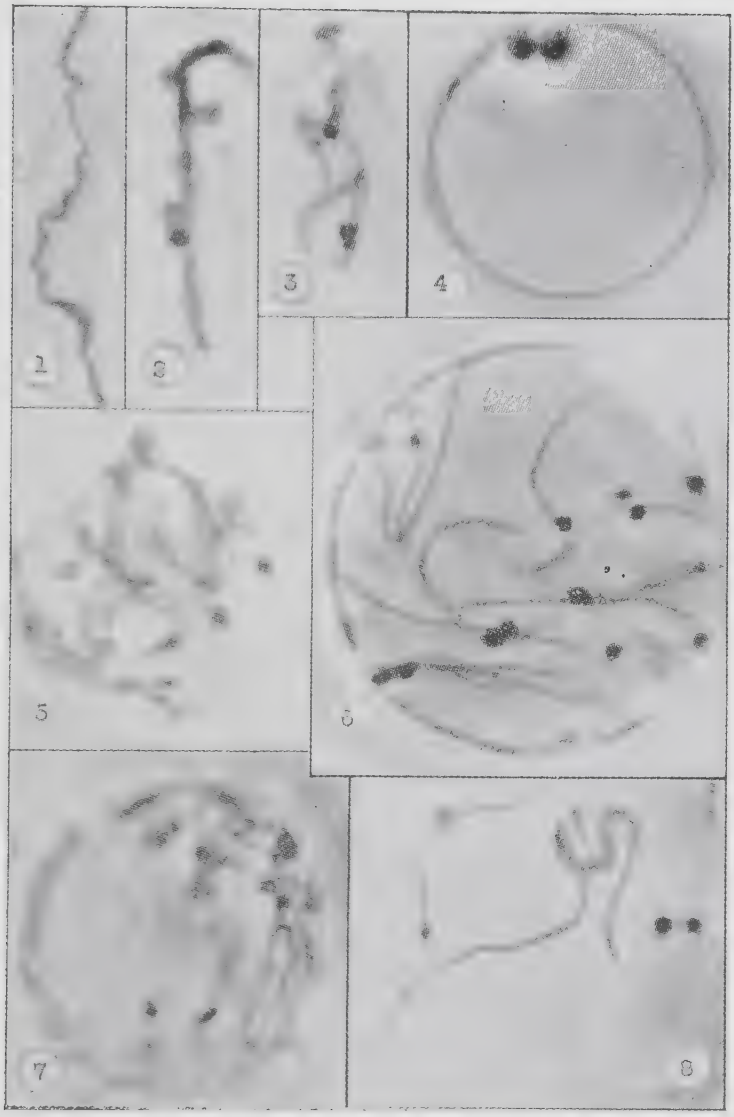


Fig. N° IV

D'après De Lamater, Haanes, Wiggall :
Studies on the life cycle of spirochetes. VII. The life cycle of the Kazan non pathogenic Treponema pallidum in culture. American Journal of Syphilis, Gonorrhea and Veneral Disease. 1951. Vol. 35, pages 216-224

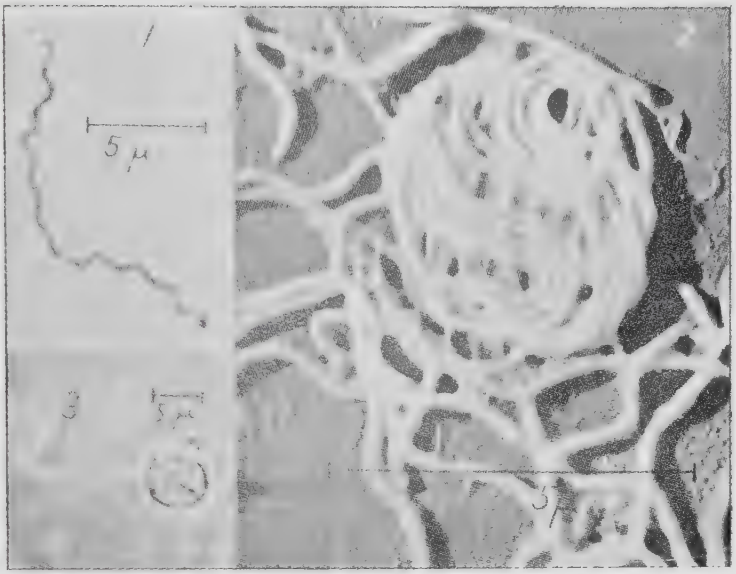


Fig. V. — « The Morphologic variation of Treponema ». Noel R. Rose, Sc. D. Philadelphia.
American Journal of Syphilis, Gonorrhea and Veneral Disease, Saint-Louis. Vol. 36, n° 1, pages 17-37. Janvier 1952

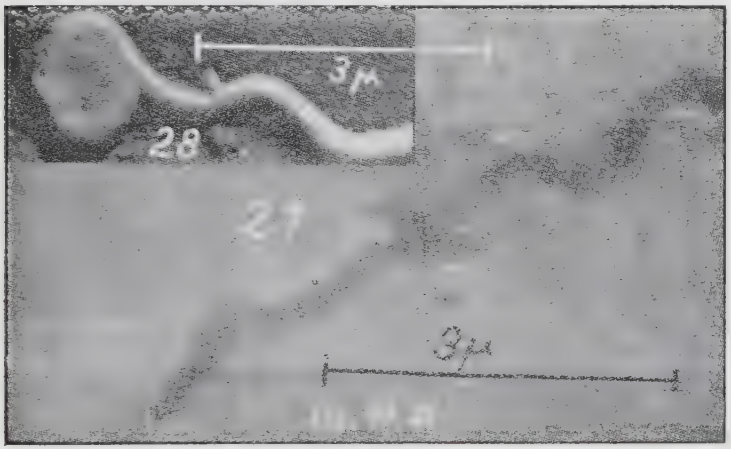


Fig. VI. — « The Morphologic variation of Treponema ». Noel R. Rose, Sc. D. Philadelphia.
American Journal of Syphilis, Gonorrhea and Veneral Disease, Saint-Louis. Vol. 36, n° 1. pages 17-37. Janvier 1952

PREMIÈRE PARTIE

ETUDE ET MISE AU POINT SUR LA SOUCHE REITER

HISTORIQUE

Lorsque l'agent pathogène de la syphilis fut découvert en 1905 par Schaudinn, de nombreux travaux furent alors entrepris pour l'étude de cet organisme. Les deux problèmes qui se posèrent aussitôt, furent l'isolement du Tréponème pâle à partir de lésions syphilitiques et sa culture à seule fin de développement du microbe. Les chercheurs n'obtinrent pas toujours l'espèce virulente et c'est ainsi qu'en 1911, Noguchi isolait la première souche de tréponème non pathogène de lésions syphilitiques humaines.

Quelques années plus tard, en 1926, Reiter (54), travaillant sur des essais de culture pure de *Treponema pallidum, dentium* et *recurrens*, fut amené à découvrir la souche qui porte son nom. Aucune description de l'organisme ne fut donnée, mais Reiter le considéra comme une variété avirulente de *Treponema pallidum*.

Pendant longtemps, cette souche ne fut l'objet d'aucune étude détaillée. On avait seulement remarqué qu'elle se développait assez facilement. Ce n'est que lorsque le problème de la structure

antigénique prit une place importante dans l'actualité sérologique, que l'on se pencha sur l'emploi éventuel de la souche Reiter.

— Absence de pouvoir pathogène.
— Cuture facile.
— Variété très voisine du Tréponème pâle.

Voilà trois qualités suffisantes pour permettre de poursuivre des travaux sur cette variété avirulente.

Les travaux relatifs à cette souche avec les expériences de Eagle, Germuth et Steinmann, en 1948, ont donné des résultats et c'est ainsi qu'actuellement nos connaissances sur la souche Reiter forment un tout homogène et bien établi.

MORPHOLOGIE ET CYCLE ÉVOLUTIF

Moyens d'étude de l'organisme

Les premières recherches portèrent sur la connaissance de la morphologie et les moyens les meilleurs pour suivre le tréponème dans les différentes phases de sa vie.

Les deux principales méthodes permettant cette étude sont :

— les méthodes de coloration,
— le microscope.

1° — *Les méthodes de coloration.* — L'expérience a montré les difficultés rencontrées dans la coloration des spirochètes. Schaudinn, en 1905, employant la coloration de Giemsa, modifiée par Romanowski, fut critiqué pour les dépôts de colorants sur les spirochètes, ce qui pourrait être une source d'erreurs. En 1912, Dobell considérait la coloration à l'hématoxyline de Heidenheim comme la meilleure pour les différents spirochètes saprophytes.

L'année suivante, Fontana obtint, avec sa méthode d'imprégnation argentique, des résultats passables (fixation au formol acétique, mordançage au tanin phéniqué, imprégnation argentique au nitrate d'argent ammoniacal). En 1951, se basant sur les travaux de Noguchi, De Lamater, Haanes

et Wiggall (12), proposèrent une méthode de coloration dérivant du Fontana, avec emploi d'une solution de violet de gentiane après l'imprégnation argentique. Ce procédé a donné de bons résultats.

2° — *Le Microscope.* — Les méthodes de coloration se sont montrées à la fois difficiles et peu satisfaisantes ; de plus, elles présentent des éléments fixés, donc morts et probablement modifiés. Aussi, a-t-on cherché des améliorations par l'emploi du microscope.

Plusieurs auteurs tels que Gelperin et Hampp ont employé le fond noir qui a l'avantage sur les précédentes méthodes de montrer les éléments vivants ; malheureusement, l'image que l'on peut en avoir est trop simple et grossière. Actuellement, le microscope à contraste de phase a permis une étude plus approfondie des spirochètes et l'emploi de la photographie en union avec cet appareil a rendu possible la fixation des différentes étapes du cycle des Tréponèmes (études de De Lamater, Haanes, Wiggall, 11 à 18).

Le microscope électronique a apporté quelques progrès, mais là encore, on use de préparations sèches qui, comme pour les méthodes de coloration, présentent des déformations des organismes.

Morphologie

Jusqu'à ces dernières années, lorsque l'on considérait l'aspect du *Treponema pallidum* pathogène, ou pouvait le définir comme un organisme spiralé hélicoïdal, composé d'un filament axial, sans membrane ondulante, enroulé sur lui-même, de 0,25 à 0,30 μ de large et 8 à 14 μ de long, avec des spires étroites, profondes et régulières.

En 1942, Mudd, Polevitzky et Anderson (36), reprenant l'étude morphologique de l'agent syphilitique, montraient que la souche Nichols pathogène, examinée au microscope électronique, présentait des filaments semblable à des flagelles. Cette constatation devait-elle amener à réviser la morphologie du spirochète ? C'est à cette question qu'ont répondu, en 1943, Wile et Kearny (63), en réussissant à mettre en évidence des flagelles chez le Tréponème pâle.

En 1949, Gelperin (25), étudiant la souche Reiter, la comparait au *Treponema pallidum* pathogène :

	Tréponème pâle pathogène	Souche Reiter
Spires	étroites, profondes, régulières	grossières
Flagelles	+	+
Epaisseur	0,25 à 0,30 μ	0,45 à 0,90 μ
Longueur	8 à 14 μ	22 à 32 μ
Mouvements ...	actifs	lents

Cette morphologie est fonction de plusieurs facteurs dont :

— le pH du milieu : il varie entre 7,2 et 6,

— les repiquages : ceux-ci font apparaître des formes plus évoluées dans le cycle évolutif,

— la durée du séjour de l'organisme dans le milieu.

Pour ce dernier facteur, la forme spiralée est visible pendant 5 à 7 jours dans un milieu contenant 0,5 à 0,7 % d'agar. Mais si l'on conserve les éléments de la souche Reiter pendant 2 ou 3 semaines et même davantage, la morphologie se trouve modifiée et ce sont ces modifications qui feront l'objet de notre étude sur le cycle évolutif du Tréponème pâle non pathogène.

Les flagelles. — La découverte de Wile et Kearny représente un tournant dans l'étude de la morphologie spirochétienne. Les flagelles sont donc une réalité et ont donné lieu à une étude particulière publiée en Novembre 1951 par Morton, Rake et Rose (35). Ceux-ci ont pu montrer :

a) *Structure* : les flagelles sont définis, au point de vue structure, et ils ne sont pas dus à des fragmentations du tréponème. On n'a pu déterminer s'il y avait un granule basal et certains flagelles semblent être une fine expansion de l'organisme au point d'émergence de la touffe flagellaire.

b) *Nombre et mesures :* sur les extrémités émoussées des tréponèmes, les flagelles peuvent se trouver 2 à 7, et même 9. Un flagelle mesure 0,02 μ de diamètre et une touffe représente 0,1 μ d'épaisseur.

c) *Mouvements :* Les flagelles présentent ordinairement un mouvement d'ondulation et maintiennent leur intégrité beaucoup mieux dans les

vieilles cultures que ne le font les corps spirochétiens. Les mouvements brusques observés au point où se fait la division cellulaire, peuvent être expliqués par la présence de flagelles aux extrémités adjacentes des organismes-filles. Ceux-ci seraient maintenus liés par les flagelles, même après la division complète.

d) *Sérologie :* Le rôle important des flagelles dans le séro-diagnostic de la syphilis est actuellement à l'étude (test d'immobilisation de Nelson) et les antigènes flagellaires devront être connus avant que tous les problèmes de la sérologie syphilitique soient résolus.

Cycle évolutif

Seguin, en 1930, décrivait une forme nouvelle des spirochètes dans les vieilles cultures de plus de 21 jours de *Spirochæta calligyrum* ainsi que dans celles de *spirochæta gallinarum*. Il appela cette forme : « ultra-virus ». Manouelian lui donna le nom de : « granule spirochétogène ».

En 1943, Simon et Mollinedo (59) affirmaient : « Il est regrettable de voir à l'heure actuelle, le granule spirochétogène trop souvent confondu avec ces formes dégénératives ou involutives du tréponème. Nous sommes en droit d'affirmer que le granule spirochétogène est vivant puisque, après filtration et ensemencement en milieu convenable, il est capable de redonner la forme spiralée. » En conclusion de leur article, ils ajoutaient : « Nous pouvons confirmer l'hypothèse de Seguin et Manouelian, à savoir que les spirochètes ont un cycle évolutif, mais que ce cycle, entrevu par de nombreux auteurs, comporte un stade pendant lequel le spirochète devient granule spirochétogène. Il est

prématuré d'affirmer que l'on se trouve en présence d'une forme de résistance ou d'involution ; nous pouvons retenir que c'est une forme vivante, capable de traverser les filtres et de devenir spiralée. »

Quelque temps plus tard, les mêmes auteurs résumaient le cycle du spirochète de culture :

— division homotypique remplacée progressivement par la division hétérotypique au fur et à mesure que vieillissent les cultures,

— apparition du spirochétogène dans les cultures où les parasites sont en voie de division hétérotypique et absence des spirochétogènes dans les cultures jeunes.

En 1948, Eagle et Germuth (21) recherchant les relations sérologiques entre les 5 souches non pathogènes, Kazan, Kroo, Nichols, Noguchi et Reiter, remarquaient dans les cultures de 2 ou 3 semaines, une modification dans la morphologie des spirochètes. En particulier, pour la souche Reiter, ils notaient la présence d'un très fort pourcentage (90 %) d'éléments globulaires avec seulement quelques formes spirochétiennes normales. Ils émirent alors deux hypothèses sur ces éléments qui pouvaient représenter :

— soit une phase du cycle évolutif,

— soit des formes dégénérées dans une culture âgée.

Gelperin (25), dans une étude sur la morphologie et les caractéristiques de culture de la souche Reiter, rapportait : « La forme spiralée est régulièrement visible si l'organisme est repiqué tous les 5 à 7 jours dans un milieu contenant 0,5 à

0,7 % d'agar. Lorsque les organismes persistent 2 ou 3 semaines dans un milieu ocntenant de l'agar, il apparaît des modifications morphologiques avec des sphères transparentes contenant quelques corps épars, petits, ronds. Ces sphères se présentent à l'extrémité des spirochètes immobiles ». Il ajoutait en conclusion : « Ces phases de développement représentent probablement un enkystement des organismes, qui a lieu lorsque la propagation devient difficile ».

Faisant le point des études sur la morphologie des tréponèmes, il comparait, en 1949, le Tréponème pâle virulent et la souche Reiter non pathogène ; on pouvait distinguer (v. p. 26) :

1) — Treponema pallidum : division transversale

2) — Souche Reiter { division transversale / division par bourgeonnement

Cette division apparaissait comme une nouveauté dans le cycle évolutif de cette variété de tréponème.

Aussi, dès 1950, une équipe de chercheurs (De Lamater, Haanes, Wiggall et Newcomer) conjuguèrent leurs efforts, usant des moyens les plus modernes (microscope électronique et microscope à contraste de phase). Ils reprirent le problème du cycle des spirochètes pathogènes et non pathogènes et purent faire une comparaison sur les différents organismes étudiés.

1° — *Cycle évolutif de la souche Nichols pathogène dans le testicule du lapin* (examen au contraste de phase) : Une série d'observations au contraste de phase sur le cycle évolutif du Tréponème pâle pathogène tel qu'il se présente dans le testi-

D'après Abraham Gelperin M.D. Dr. P.H. New-Haven
American Journal of Syphilis, Gonorrhea and Veneral Disease,
Saint-Louis. Vol. 33, n° 2, pages 101-113. March 1949

cule du lapin, démontre qu'il y a deux moyens de reproduction :

— division transversale (la plus importante dans ces conditions),

— production de bourgeons donnant des kystes comparables à ceux des formes saprophytes. Dans chacun de ces kystes se développe un seul spirochète.

On a suggéré qu'un processus plus complexe a lieu lorsque se développent des kystes à plusieurs spirochètes, dus à une agglomération de deux ou plusieurs organismes. Dans chacun de ces grands kystes, se développent de nombreux spirochètes qui en sortent pêle-mêle. Après leur libération, ils subissent une division transversale ou une formation de bourgeons pour se reproduire.

2° — *Cycle évolutif de la souche Nichols pathogène dans le testicule du lapin* (examen par coloration) : Les travaux effectués sur des testicules de lapin avec des méthodes de coloration, tendent à confirmer les observations faites au contraste de phase et surtout que le cycle évolutif chez le Tréponème pâle pathogène aussi bien que chez les espèces saprophytes, se présente comme un cycle évolutif complexe. Il est le même dans les deux cas.

3° — *Cycle évolutif de la souche Nichols non pathogène en culture :* Les auteurs ont pu constater la division transversale et la formation de bourgeons denses et clairs ainsi que la présence de formes « en branches ». Ils ont aussi étudié le développement de kystes polyspirochétiens :

— dus à l'agglomération de deux ou plusieurs organismes,

— dérivant d'un simple spirochète.

4° — *Cycle évolutif de la souche Kazan non pathogène en culture :* Il semble évident que du point de vue végétatif, il y ait deux modes de reproduction :

— division transversale : moyen le plus fréquent spécialement dans des conditions de développement rapide (jeunes cultures),
— production de bourgeons : cultures plus âgées avec éventualité de kystes unispirochétiens à partir desquels apparaissent les tréponèmes. Dans ces conditions, les spirochètes doivent atteindre la maturité avant de quitter le kyste. On peut aussi avoir production de kystes multispirochétiens formés à partir de plusieurs spirochètes. (Voir figure IV).

Après ces quelques travaux, les auteurs ont fait une mise au point quant au cycle évolutif du tréponème :

A. — Division transversale : Un rapide mouvement de fléchissement est suivi d'une coupure dans la continuité du corps spirochétien. Le tréponème subit une période de repos suivie d'un mouvement de « fouet ». Les deux fragments s'écartent mais restent reliés par un filament délicat. Par un mouvement d'enroulement, ce dernier se brise. Mais avant la séparation, apparaissent de chaque côté une touffe de flagelles, origine des futurs flagelles du spirochète (voir figure III). C'est le mode de reproduction le plus fréquent dans les jeunes cultures. Après le dixième jour, les spirochètes s'allongent, les flagelles sont plus difficiles

à mettre en évidence et peuvent manquer dans certains cas.

B. — Reproduction par bourgeons : Les bourgeons peuvent se présenter soit avec une structure peu visible, soit limités par une frêle membrane, montrant des granules à l'intérieur (voir fig. IV). Les granulations denses et visibles dans les kystes tendent à s'allonger en bâtonnets courbes. Il apparaît que dans ces stades d'observation, les granules qui deviennent visibles dans ces petits kystes, sont à l'origine des spirochètes-filles et que le spirochète est produit par allongement et développement de ces granules. Ce processus de reproduction demande à être détaillé.

C. — Production de kystes multispirochétiens par agglomération : Ces kystes paraissent être formés de deux façons : des formes denses en grappes ou des organismes couplés. Ces corps sont plus denses et plus grands que ceux qui se forment à partir d'un simple spirochète. Ils prennent une taille considérable et on peut voir facilement une membrane. Actuellement, on peut dire que les granulations, placées couramment sur le côté ou à la périphérie des kystes, paraissent doubler, formant des aggrégats denses. A partir des granulations, se développent des filaments spirochétiens qui restent attachés à celles-ci qui sont considérées comme base des spirochètes. Certaines photos font penser que les granulations peuvent se dédoubler par formation de bourgeons.

D. — Production de kystes multispirochétiens par réorganisation interne : L'existence possible d'une *phase filtrable* dans le cycle évolutif

des spirochètes a été postulée depuis de nombreuses années (Lépine, Levaditi). Aussi, une série d'expériences de filtration a été tentée, employant 3 souches. Les cultures furent passées à travers des filtres bactériens et les filtrats furent ensuite repiqués dans un milieu connu pour supporter le développement des organismes spirochétiens. Les expériences portèrent sur *Treponema pallidum* (souches Kazan et Nichols non pathogènes) et *Borrelia anserina* et les résultats indiquent qu'aucune forme filtrable n'a été mise en évidence dans l'organisme étudié.

CULTURE DE LA SOUCHE REITER

En 1905, lorsque Schaudinn découvrit l'agent pathogène de la syphilis, le premier problème qui se posa, fut celui de la culture du tréponème. Des essais furent faits :

— en mélangeant du liquide céphalo-rachidien avec du bouillon peptoné neutre,
— en ensemençant des fragments de syphilomes dans du sang humain citraté.

On retrouva des spirochètes après 20 jours à l'étuve, mais les cultures furent rapidement envahies par des microbes banaux. Le problème restait donc entier.

Depuis, pour cultiver ces organismes tréponémiques, il y a eu de nombreuses tentatives infructueuses à la fois sur des milieux naturels et artificiels. Supinewski, Hano et Scheff furent parmi les premiers à approcher le problème en étudiant le métabolisme et les besoins de croissance du *Treponema pallidum*, tels qu'il puisse être cultivé sur des milieux synthétiques. Ils montrèrent, tout comme Kast, Kolmer (28) et Wichelhausen, qu'un ou plusieurs facteurs présents dans les tissus et liquides circulants du corps (sérum sanguin, liquide d'ascite) étaient essentiels pour le développement de ces organismes.

Pour la souche Reiter, la culture porta sur des milieux vivants et artificiels, mais le gros effort fut fait surtout sur ces derniers qui fournissent un développement intéressant.

Milieux vivants

Après sa découverte, la souche Reiter ne donna lieu, pendant longtemps, à aucune étude détaillée tant au point de vue morphologie que culture. Pourtant, de 1926 à ces dernièrese années, les essais furent nombreux sur les souches Kazan, Nichols, Noguchi et Kroo, sans oublier le plus important : *Treponema pallidum* pathogène. Les milieux employés pour ceux-ci ont été divers :

1° *Œuf de poule* : œuf entier (Bessemans, De Meirsman, Wile, Snow, Rowe et Curtiss).

— embryon (Newcomer, Haanes, De Lamater).

— membrane chorio-allantoïdienne (Sterzi, Staudacher, Rowe, Curtiss).

— jaune d'œuf (Haanes, Wiggall, De Lamater).

2° *Testicules de lapin* : ceux-ci servent pour l'entretien des souches.

3° *Souris* : chez ces animaux, on a noté la présence des tréponèmes dans les ganglions.

Le seul travail tenté pour la culture de la souche Reiter sur milieu vivant est celui de Beardmore et Dodd (1950) (1) sur 'embryon de poulet.

Les échecs relatifs au développement des tréponèmes virulents dans l'embryon de poulet pouvaient être dus à un milieu non approprié ou à

un défaut d'anaérobiose. Le fait que la souche Reiter pousse facilement dans un milieu artificiel, en anaérobiose, a fait penser au rôle probable de cette condition dans la culture dans l'embryon.

Les auteurs employèrent des inocula constitués par le sédiment de la centrifugation de cultures de spirochètes (cultures âgées de 4 jours) poussant dans le milieu de Brewer enrichi de 10 % de sérum humain.

Inoculum : 0,5 cm³
Embryons de poulet : 10 jours.
Lieux d'injection : membrane chorio-allantoïdienne
liquide allantoïdien
circulation fœtale
jaune d'œuf.

Développement du Tréponème (Reiter) dans les œufs traités et non traités :

Nombre d'œufs	Traitement des œufs	Sort des embryons	Développement
12.....	Aucun	Développement normal	Aucun
52.....	4° : 1 à 14 jours	mort apr. 2 jours	Aucun
52.....	20° : 1 à 4 jours	mort apr. 4 jours	Aucun
12.....	47° : 1 jour	mort	Aucun
12.....	Paraffinés	mort	100 %

Ce tableau montre que le facteur essentiel est bien : l'*anaérobie*.

Milieux artificiels

Quoique le développement *in vitro* de ces tréponèmes ne soit pas difficile, il est souvent délicat de les faire se développer dans un milieu convenablement préparé et en même temps de les voir garder leurs caractéristiques morphologiques.

Little, Subbarow (31), Whiteley et Frazier rapportèrent les premiers que la souche Reiter pouvait être cultivée dans un milieu simple consistant en une hydrolyse acide de la caséine (ou un mélange d'acides aminés composant cette protéine) additionné de glucose, plusieurs vitamines (acide ascorbique, niacine, pantothénate de calcium, pyridoxine, riboflavine, thiamine), une substance réductrice soufrée (thioglycolate de sodium) et de sérum-albumine.

En 1940, Brewer (6) mit au point un milieu qui, à l'heure actuelle, sert de milieu de base pour la recherche et comprend :

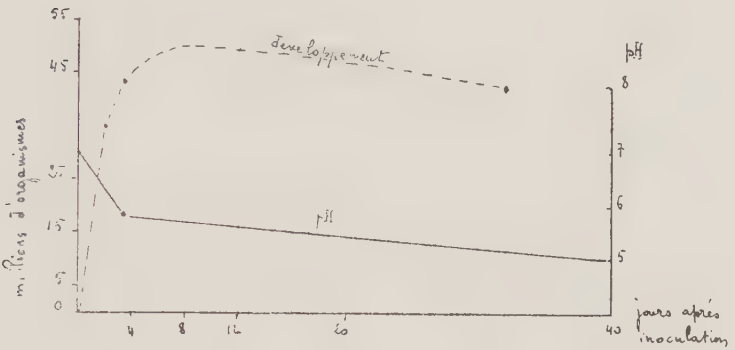
Extrait de levure	5 gr.
Hydrolysat de caséine	15 gr.
Glucose	5 gr.
Chlorure de sodium	2,5 gr.
l-Cystine	0,75 gr.
Acide thioglycolique	0,3 cm^3
Agar	0,75 gr.
Resazurine	0,001 gr.

Ce milieu au thioglycolate de sodium a subi des modifications au cours des années qui suivirent sa mise au point :

a) *Agar :* il n'est plus employé depuis que l'on s'est aperçu qu'il précipite durant le développement des tréponèmes et ne peut être séparé par centrifugation.

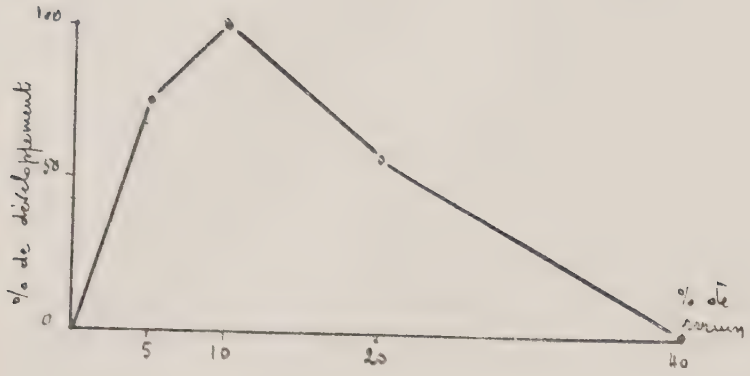
b) *Résazurine :* Ce colorant, indicateur d'anaérobiose, n'est plus nécessaire, parce que de nombreuses expériences montrèrent que cette condition était obtenue avec 0,1 % de thioglycolate de sodium. De plus, la résazurine n'agit pas en présence de sérum.

c) *Phosphate disodique :* cette substance-tampon, par contre, a été ajoutée dans le seul but d'arrêter la diminution du pH, qui a lieu pendant le développement des organismes. La courbe ci-dessous montre l'évolution du développement en fonction du pH et en l'absence du phosphate disodique.



d) *Acide ascorbique :* Le milieu de Brewer a été additionné d'acide ascorbique pour favoriser l'équilibre et l'anaérobiose.

e) *Sérum ou liquide d'ascite chauffés :* Pour reprendre l'idée de Supinewski et de ses collaborateurs, l'addition de 10 % de sérum correspond à l'optimum de développement des spirochètes (courbe ci-après).



On a constaté qu'une concentration supérieure à 10 % de sérum chauffé ne provoque pas d'augmentation et les concentrations inférieures à 8 % amènent une diminution rapide dans le nombre des spirochètes obtenus par culture à 37°.

Partant de ces données, les auteurs utilisèrent comme milieu de base, le mélange suivant :

— milieu de Brewer au thioglycolate de sodium.
— 10 % de sérum humain (ou liquide d'ascite).
— phosphate-tampon.
— acide ascorbique.

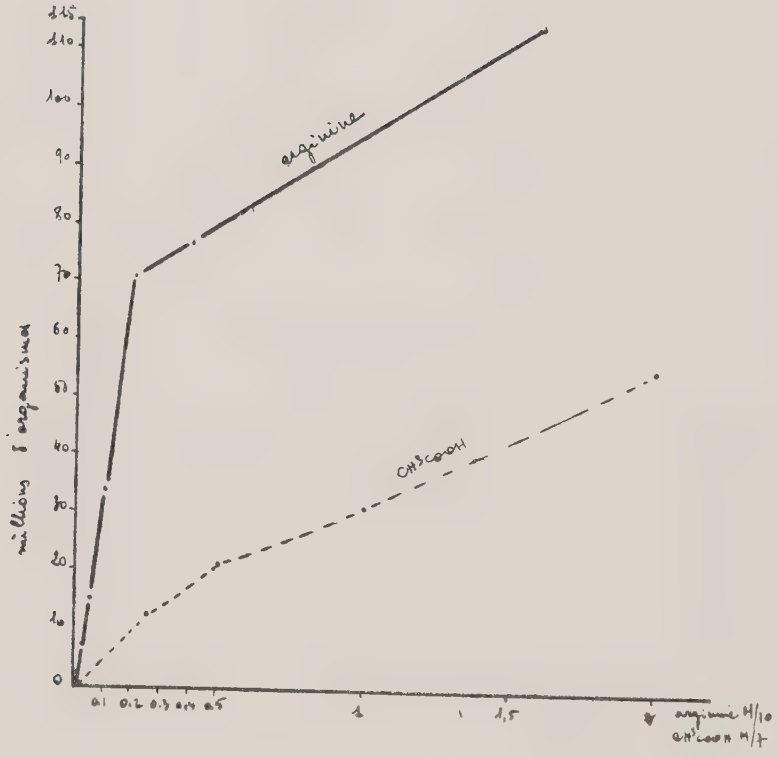
En 1949, Eagle et Steinman (19) reprirent l'étude systématique des besoins nutritifs du Tréponème pâle (souche Reiter). Ils essayèrent de nombreuses substances dont quelques-unes donnèrent des résultats satisfaisants :

1° — ARGININE

Arginine M/10 dans 5 cm³ de milieu	0	0,025	0,05	0,1	0,2	0,4	1,6
Millions d'organismes après 6 jours d'incubation	0	7	15	34	71	77	114

2° — ACIDE ACETIQUE

Milieu de base						Nombre final après 6 jours d'incubation				
						Acétate de sodium M/7				
sér. lapin chauffé dialysé	milieu Brewer	arginine M/10	phosph. tampon M/10,5	chloryd. cystéine M/10,5	Nombre initial millions Reiter	0	0,25	0,50	1	2
0,5	0,1	1	0,5	0,35	0,5	0	12	21	36	55

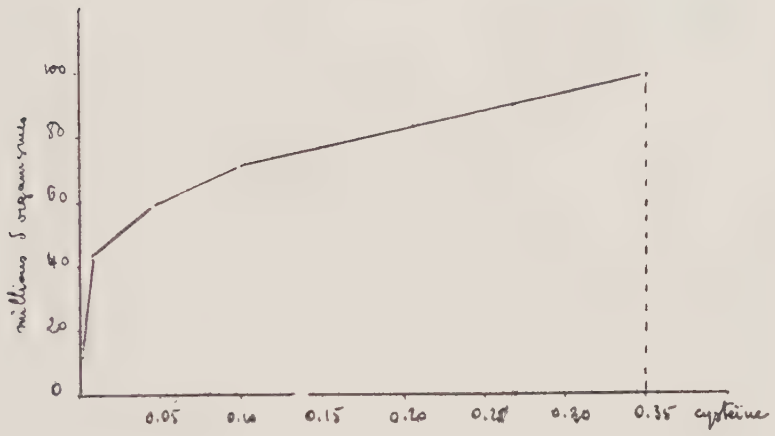


Ces deux courbes représentent l'influence de l'arginine et de l'acide acétique sur le développement des Tréponèmes.

The Nutritional requirements of Treponema (Eagle-Steinman : Journal of Bacteriology. 1948. Vol. 56, page 163).

3° *Substances à groupement soufre* (cas de la Cystéine)

L'optimum de concentration à employer pour la cystéine est fixé par la courbe à 0,33.

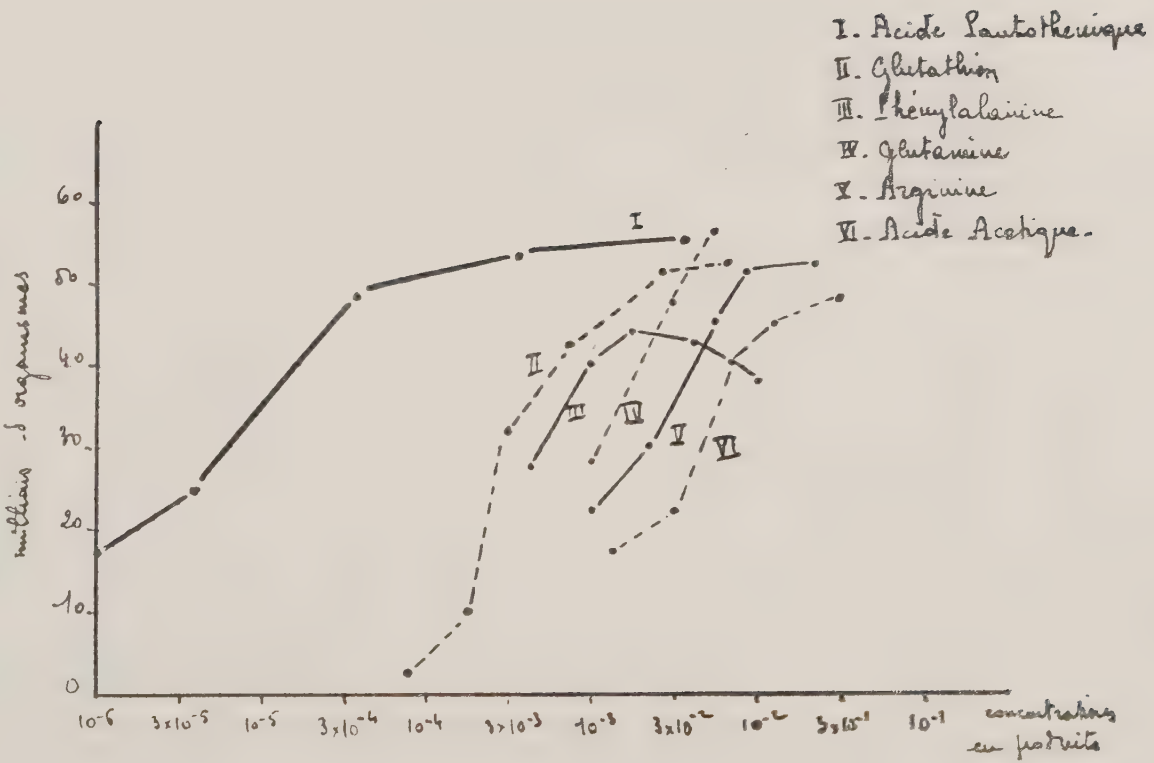


4° *Acide Pantothénique, Glutamine, Phénylalanine*

Le milieu de base pour l'essai de ces substances est :

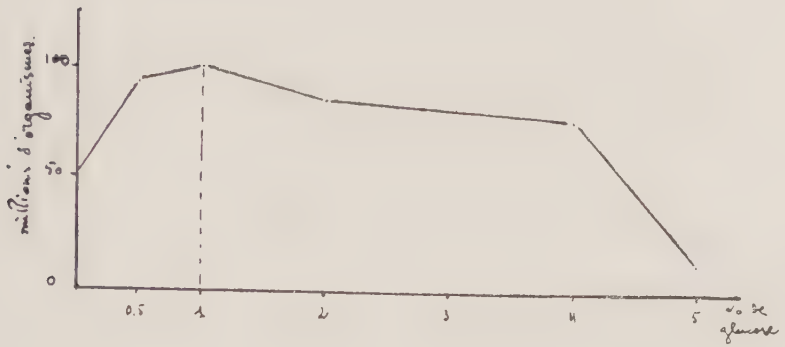
Pantothénate de calcium à 0,1 %	0,1 cm³
Glutathion M/7	0,25 —
l-Phénylalanine M/10	0,1 —
Glutamine M/7	0,2 —
l-Argynine M/10	1,5 —
Acétate de sodium M/7	1,5 —
Sérum - albumine cristallisée à 5 %	0,5 —
Phosphate-tampon (pH = 7,4) M/10,5 ..	0,5 —
Acide ascorbique M/7	0,25 —

(Voir la courbe suivante).


I. Acide Pantothenique
II. Glutathion
III. Phénylalanine
IV. Glutamine
V. Arginine
VI. Acide Acetique.
multiplication des organismes
0
10
20
30
40
50
60
I
II
III
IV
V
VI
10⁻⁶
3x10⁻⁵
10⁻⁵
3x10⁻⁴
10⁻⁴
3x10⁻³
10⁻³
3x10⁻²
10⁻²
5x10⁻¹
10⁻¹
concentrations en protéine

5° *Glucose* (Rose et Morton, 1951) (55)

Le glucose agit favorablement à la concentration de 1 %.



6° *Acides gras et acides aminés* (Boak, Fawcett, Carpenter) (4).

Des 24 acides aminés ajoutés au milieu de Brewer, la bétaïne, la citulline, la créatinine et la dl-ornithine furent les plus intéressants pour le maintien d'un fort pourcentage de spirochètes mobiles.

L'addition de 8 acides gras à la concentration de 0,005 et 0,01 % ainsi que l'addition de facteurs de croissance (chlorhydrate de choline) (acide folique, glutathion) à 0,1 % ne font pas augmenter le nombre des organismes mobiles.

En 1951, Gelperin (25), employant un milieu de Brewer simplifié :

— Trypticase ..... 15 gr.
— Phosphate disodique ..... 7 gr.
— Dextrose ..... 5 gr.
— Extrait de levure ..... 5 gr.
— Thioglycolate de sodium .... 1,5 gr.

Le tout dans un litre d'eau distillée et agité 30 minutes, puis passé à 37° pendant 20 à 30 minutes jusqu'à obtention d'une solution clarifiée.

effectua une série d'expériences en présence et en l'absence d'agar, avec agitation manuelle et mécanique. Il obtint des résultats à peine meilleurs avec l'agitation mécanique.

En Janvier 1952, Rose et Morton (55) ont proposé un milieu pour la culture en masse des spirochètes :

Le milieu de base consiste en un mélange de Bacto-Heart infusion (U.S.A.) et 1 % de glucose. Cette mixture doit être préparée fraîchement et chauffée à l'ébullition avant l'emploi (anaérobiose). On y ajoute 10 % de *filtrat plasmatique* (le plasma est retiré du sang, chauffé à 65—75° et maintenu à cette température pendant 1 heure) ainsi que 0,05 % de chlorhydrate de cystéine neutralisée et stérile. Le pH du milieu doit être de 7,2. On distribue le milieu dans des fioles de Roux que l'on ensemence à partir d'inocula.

Ce milieu offre des avantages :

— les organismes présentent une mobilité active et des spires régulières. Il y a peu de « kystes » ou « granules spirochétogènes ».
— les tréponèmes n'ont pas grande tendance à sédimenter spontanément pendant leur développement. L'agitation n'est pas nécessaire.
— le milieu est clair et relativement privé de particules en suspension ; ainsi les orga-

nismes ne nécessitent pas de centrifugation ni de lavage.

Ainsi, dans l'état actuel des connaissances sur les milieux de culture, il semble que certains produits (fractions IV et V du sérum de bœuf, frac- VI du sérum humain) font espérer encore une amélioration dans la multiplication des spirochètes.

STRUCTURE ANTIGENIQUE ET REPONSE DE L'ORGANISME HUMAIN

Dans l'espoir d'obtenir les conditions de spécificité, Gaethgens (23) proposa, comme antigène, une suspension spirochétienne de la souche Reiter. Ces tréponèmes non pathogènes représentent des organismes de structure complexe dont l'étude a fait l'objet de nombreux travaux en Italie et en Amérique.

Du point de vue sérologique, voulant reproduire les différents éléments de la réaction, Gaethgens (23) a choisi comme antigène cette suspension phénolée de spirochètes Reiter. Les organismes inoculés provoquent l'apparition d'un anticorps spirochétien. Mais quel rapport existe-t-il entre la réaction normale de Wassermann et les anticorps spirochétiens ?

En 1940, Eagle et Hogan (20) émettaient l'hypothèse de la présence dans le sérum syphilitique de deux anticorps :

— un anticorps dû à l'ensemble spirochétien,
— un anticorps dû aux lipoïdes organiques,

réponse directe aux deux antigènes correspondants.

L'Ecole italienne, avec D'Alessandro, Puccinelli, Oddo et leurs collaborateurs, reprit les travaux sur la structure antigénique de la souche Reiter, qui ont conduit aux résultats suivants :

1° *Antigène tréponémique spécifique thermolabile T.C.L.* (abréviation italienne de termo cotto labile).

a) *Propriétés :* présente les caractéristiques des *protéines*, est détruit par chauffage à 76-78° pendant 1 heure, ne résiste pas à l'action de l'alcool, ni à la digestion protéolytique avec la papaïne.

b) *Préparation:* On met en suspension dans l'eau physiologique des tréponèmes lavés que l'on soumet à l'épreuve de la cryolyse (réfrigérations à — 10° et chauffage à 37° une dizaine de fois). On centrifuge à grande vitesse et on sépare le culot. Le liquide surnageant opalescent est dialysé à 5° pendant plusieurs jours dans une membrane de collodion contre de l'eau distillée. On obtient ainsi un fin précipité qui est centrifugé à 4.000 tours pendant 2 heures et redissout dans l'eau physiologique. On a une solution d'antigène tréponémique-spécifique, thermolabile, de nature protéique.

2° *Antigène tréponémique thermostable T.C.S.* (abréviation de l'italien termo cotto stabile).

a) *Propriétés :* de nature polyosidique, résiste au chauffage à 100° pendant 1 heure, à l'alcool, n'est pas dialysable, n'est pas altéré par digestion protéolytique.

b) *Préparation :* On fait agir de la soude sur des tréponèmes desséchés et ceci pendant 24 heures. La solution est neutralisée par 40 % d'acide trichloracétique pour terminer à une concentration acide de 5 %. On attend 12 heures puis on sépare le précipité par centrifugation. Le liquide surnageant est traité par 4 volumes d'alcool absolu et laissé à 4° pendant quelques heures. Il se dépose

un précipité fin que l'on centrifuge ; on l'additionne d'eau distillée. On a ainsi isolé le polyoside que l'on purifie par deux lavages à l'alcool et dissout dans du chlorure de sodium pour obtenir l'isotonie.

3° *Antigène lipoïdique ubiquitaire L.* (abréviation de lipoïdique).

a) *Propriétés :* il est présent à l'état diffus dans les organes d'animaux. Des recherches ont été orientées sur l'identité sérologique de cet antigène et celui contenu dans l'extrait de bœuf, ainsi que sa teneur comparée entre les spirochètes, le cœur de bœuf et une espèce microbienne sérologiquement active (colibacille). Elles ont montré que la quantité et l'activité sérologique des lipides spirochétiens sont supérieures à celles du coli.

b) *Préparation :* On mélange 0,1 mgr. de tréponèmes séchés et 10 cc. d'une solution alcool-éther (7 parties pour 3 parties). On évapore, et l'extrait est redissous dans l'alcool absolu. On effectue une extraction au Kumagawa-Suto.

4° *Antigène lipoïdique analogue à l'antigène cérébral organe-spécifique.*

a) *Propriétés :* diffère sérologiquement et chimiquement du lipoïde ubiquitaire, se trouve plutôt dans la fraction soluble dans l'acétone ; inoculé à un animal, il donne naissance à des anticorps capables de fixer le complément non seulement avec l'antigène spécifique, mais aussi avec les extraits alcooliques de tissus cérébraux.

b) *Préparation :* des spirochètes sont mis en présence d'alcool à 96° bouillant et la solution est ensuite évaporée. L'extrait est soumis à la disso-

lution fractionnée (chloroforme, acétone, éther). L'antigène se trouve dans la fraction soluble dans l'acétone.

Avant de clore cette liste d'antigènes présents dans le corps spirochétien, il faut signaler les travaux parus en 1949 de Nelson et Mayer (38) sur « L'immobilisation du Tréponème pâle *in vitro* par un anticorps produit dans l'infection syphilitique ». Cette action s'exerçant sur les flagelles, on peut penser que le spirochète présente un antigène flagellaire à l'origine de l'anticorps mis en évidence par les auteurs dans le texte de Nelson (technique récente dans la sérologie de la syphilis). Existe-t-il en fait dans la mosaïque antigénique du tréponème ?

Un individu atteint d'infection syphilitique présente un sérum contenant les anticorps correspondants aux différents antigènes spirochètes. Il sera bon pour terminer ce chapitre de mettre en évidence les trois principales réagines par la réaction de fixation du complément et d'étudier leur comportement dans la maladie.

Mise en évidence de la réaction syphilitique

La réagine syphilitique est un anticorps supporté par les globulines.

Pour cette mise en évidence, on opère avec les trois antigènes :

— extrait alcoolique d'organes : antigène lipoïdique L.
— suspension de Tréponèmes dans l'eau physiologique : antigène tréponémique - spécifique thermolabile T.C.L.
— suspension de Tréponèmes maintenus à 90—100° pendant 1 heure : antigène tréponémique thermostable T.C.S.

Technique :

1° Examen de la conduite du sérum dans la réaction de fixation du complément avec les trois antigènes décrits.

2° Séparation de la réagine lipoïdique à partir du sérum :

On mélange 1 cm³ d'extrait alcoolique de cœur de bœuf évaporé au bain-marie à 56° avec 2 cm³ d'eau physiologique additionnée de 10 à 20 mgr. de kaolin. On agite 10 minutes et on centrifuge à grande vitesse. Le sédiment est mis en présence de 1 cm³ de sérum à examiner et 1 cm³ d'eau physiologique. On laisse les tubes à température du laboratoire 3 heures, en agitant de temps en temps. On centrifuge ensuite fortement. Le sérum, ainsi privé de la réagine L., est recueilli et mis en présence des trois antigènes.

3° Séparation de la réagine polyosidique thermostable : On mélange 1 cm³ de sérum privé de la réagine L. avec 1 à 2 cm³ de suspension tréponémique lavée à l'eau physiologique et chauffée à 100°. On garde à 37° pendant 1 heure, puis à 0° pendant 15 minutes, en agitant de temps en temps. On centrifuge enfin à haute vitesse. Les spirochètes absorbent la réagine T.C.S. Le sérum contient seulement la réagine T.C.L. On juge de la présence ou absence de la réagine T.C.L. en mettant en présence le sérum et les différents antigènes.

Sérum	Antigène L cœur bœuf	Antigène T.C.S.	Antigène T.C.L.
Après adsorption	+ + +	+ + +	+ + +
Après adsorption avec L.	— — —	+ + +	+ + +
Après adsorption avec T.C.S. ..	— — —	— — —	+ + +
Après adsorption avec T.C.L. ..	— — —	— — —	— — —

Comportement des réagines

On peut résumer le comportement des trois réagines dans les différentes périodes de l'infection syphilitique d'après la conclusion des auteurs italiens (Puccinelli) (47 à 53) :

1° *Période primaire :*

— présence de la réagine T.C.L. 5 à 7 jours après l'apparition du chancre.
— la réagine T.C.S. se montre quelques jours après (10 à 15 jours).
— la réagine L apparaît plus tard (20 jours).
— la plus grande sensibilité dans la syphilis sans manifestation est imputable à la présence dans le sérum, de l'anticorps antitréponémique en l'absence de l'anticorps antilipoïdique.
— en présence de manifestations florides, les trois réagines sont présentes.

2° *Période secondaire :*

— au début de cette période, présence des trois réagines avec prépondérance de la réagine T.C.L. qui persiste longtemps et abondamment.

— la réagine T.C.S. peut faire défaut dans la fin de cette période.

3° *Période tertiaire :*

— comportement analogue.

4° *Syphilis congénitale :*

— il n'est pas rare de vérifier la présence de la réagine L en l'absence des réagines tréponémiques.

Une donnée importante réside dans le fait que dans aucun des nombreux sérums examinés par les auteurs italiens, ceux-ci n'ont pu relever la présence de la réagine T.C.S. en l'absence de réagine T.C.L.

En résumé, l'apparition des anticorps se fait de la manière suivante :

— anti-corps antitréponémique thermolabile,
— anti-corps antitréponémique thermostable,
— anticorps antilipoïdique.

Pour conclure l'étude de la structure antigénique du spirochète pâle et du comportement des anticorps syphilitiques dans l'infection luétique, on peut dire que la préparation relativement purifiée de l'antigène tréponémique spécifique de nature protéique offre une voie pratique pour la mise en évidence des anticorps spirochétiens et la recherche de la fraction spécifique antigénique.

DEUXIÈME PARTIE

UTILISATION DU TRÉPONÈME REITER EN SÉROLOGIE

Le problème antigénique

Wassermann et Bruck (1906) ont utilisé le principe de la réaction de Bordet-Gengou pour pouvoir déceler dans les humeurs syphilitiques des substances ou *sensibilisatrices* élaborées dans l'organisme au contact du Tréponème pâle. Il fallut trouver l'antigène utilisé pour déceler par cette technique les sensibilisatrices syphilitiques ; on pensa que l'antigène de choix consisterait en un extrait, en milieu physiologique, d'un organe bourré de tréponèmes (foie ou rate d'un enfant hérédo-syphilitique). Les travaux de Levaditi et de Landsteiner ont montré qu'on peut utiliser comme réactif antigénique, un extrait de foie normal ou de différents organes (surtout myocarde de bœuf ou de veau). Cette découverte importante avait, par contre, l'inconvénient de battre en brèche le fondement immunologique de la découverte de Wassermann. Pour certains, ce fondement immunologique ne pouvait plus être, car les auteurs employaient un antigène ne provenant pas de l'agent pathogène, donc dépourvu de spécificité.

On a voulu expliquer ces tests sérologiques en se basant sur les phénomènes physico-chimiques non spécifiques (modification plasmatique plus ou moins spécifique, liée à l'envahissement d'un organisme humain par le tréponème).

La mise au point des tests de floculation rendus de plus en plus sensibles par addition de certaines substances et l'utilisation de substances non extraites de tréponèmes ne permettent pas de réfuter la théorie immunologique.

Ainsi des tests jadis empiriques sont considérés, actuellement, comme immunologiques et soumis aux influences qui modifient les réactions immunologiques. Ce fondement est confirmé par les statistiques cliniques suivant l'évolution de l'intensité des tests et par l'emploi comme réactif antigénique, de suspensions de tréponèmes de culture, non pathogènes ou de Tréponèmes pâles à partir d'orchites expérimentales de lapin.

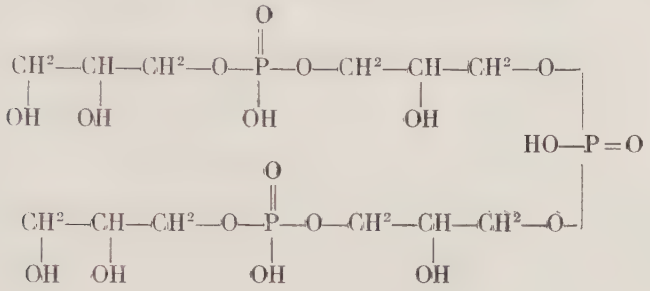
Le problème antigénique, du point de vue sérologie pratique, fait appel aux :

— antigènes lipoïdiques,
— antigènes spirochétiens.

Antigènes lipoïdiques

Jusqu'à ces dernières années, après que Yamanouchi eut montré que les extraits aqueux d'organes pouvaient être remplacés par des extraits alcooliques en suspension dans l'eau, ceux-ci furent employés comme antigènes dans les réactions sérologiques (extrait de cœur de bœuf, de veau). La constitution chimique de ces lipides antigéniques a fait l'objet de nombreuses recherches. C'est ainsi qu'en 1941, Mary Pangborn a réussi à isoler du muscle cardiaque après des purifications chimi-

ques complexes, un acide phosphatidique particulier, sans azote, et qu'elle dénomma : « Cardiolipine ». En France, Mlle Faure a mis au point une méthode plus simple permettant d'obtenir le même cardiolipide, de pureté égale. Cet antigène est constitué par un enchaînement tétraglycérophosphorique estérifié par des acides gras non saturés (surtout acide linoléique et peu d'acide oléique).



estérifié par 5 molécules d'acide linoléique et 2 molécules d'acide oléique.

Le cardiolipide possède un léger pouvoir anticomplémentaire qui a fait l'objet d'essais pour le diminuer. C'est ainsi qu'on est arrivé aux résultats suivants :

— cardiolipine + sérum normal : diminution du pouvoir anticomplémentaire.
— cardiolipine + sérum syphilitique : augmentation du pouvoir anticomplémentaire.
— cardiolipine + lécithine : diminution en fonction des quantités croissantes de lécithine (optimum pour 5 parties de lécithine contre 1 partie de cardiolipine).

Le cholestérol ayant une action favorable, l'optimum d'action antigénique est obtenu en mélangeant :

cardiolipine :	1 partie
lécithine :	5 —
cholestérol :	3,5 —

Cet antigène cardiolipidique présente des avantages sur ses prédécesseurs :

— les extraits empiriques préparés à partir du muscle cardiaque peuvent renfermer d'autres substances (céphalines, sphingomyélines, glycérides, bases puriques) susceptibles d'interférer sur la composition des suspensions et être à l'origine de fausses réactions.
— l'emploi du cardiolipide a permis d'augmenter la sensibilité des tests même dans le cas de syphilis tertiaire avec le « phénomène de zone » (travaux de Storck et Fischer en 1950 sur la technique du V.D.R.L.).
— enfin, et c'est la propriété la plus importante, il ne donne pas de « réactions faussement positives » (cas des femmes enceintes qui sera repris plus loin).

Actuellement, on a généralisé l'emploi de l'antigène cardiolipidique, préparé par l'Institut Pasteur. Pour les réactions d'hémolyse, le même mélange (cardiolipine-lécithine-cholestérol) amené à des titres différents, sert dans la plupart de celles-ci :

Techniques	Titres
Wassermann	100
Debains	300
Kolmer	200
Demanche	600
Calmette-Massol	75
Hecht (variante I. P.)	200

Il entre aussi dans l'exécution des réactions de floculation Kline et V.D.R.L. (Vénéral Disease Research Laboratory), et a permis de mettre au point de nouveaux tests par l'ajustement de ces réactifs antigéniques aux anciennes réactions (Kolmer).

Antigènes spirochétiens

En 1929, Gaethgens démontrait que les sérums syphilitiques déviaient le complément en présence d'une suspension de *Treponema pallidum* (souche cultivable Reiter) qu'il dénomma « Palligène ». Il mit au point une réaction (palida-réaction) qui se différencie du BW classique par le fait que l'antigène est représenté par une suspension aqueuse de culture de spirochètes Reiter en combinaison avec 0,3 % de phénol (substance de renforcement). Cette technique peut s'effectuer dans les mêmes conditions que la réaction de Bordet-Wassermann.

Reprenant l'idée de Gaethgens, les Italiens ont porté leurs efforts sur l'emploi de l'antigène spirochétien dans la sérologie de la syphilis et ont mis au point un antigène : le « Pallignost », voisin du palligène (Institut Sérothérapique de Milan).

C'est ce « Pallignost » qui a fait l'objet du travail qui va suivre et que l'on a voulu comparer aux techniques employant le cardiolipide.

Comme chacun des sérums a été étudié avec les trois réactions au cardiolipide, il est bon d'exposer ces techniques.

Technique de Kolmer (réaction d'hémolyse) :

La technique de Kolmer est caractérisée par l'emploi d'une faible quantité de globules rouges, l'utilisation de 2 unités de complément et de 2 unités d'hémolysine et par une fixation prolongée du complément à basse température (4°).

Les sérums à examiner sont chauffés au préalable pendant 30 minutes dans un bain-marie à 56°, afin de détruire le complément qu'ils renferment.

Titrage du complément :

Complément au 1/50.....	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30
Eau physiologique	0,30	0,25	0,20	0,15	0,10
Antigène au 1/200	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
1 heure au bain-marie à 37°					
Sérum hémolytique 2 unités	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Globules rouges 2 %	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
1 heure au bain-marie à 37°					
Dilution du complément à utiliser pour avoir 2 unités dans 0,4 cm³	1/100	1/66	1/50	1/40	1/35

La dose minima de complément est indiquée par le tube contenant la plus faible quantité de sérum de cobaye et présentant l'hémolyse totale.

Pour la réaction, on utilise deux doses minima (2 unités). Les dilutions sont données dans le tableau suivant afin d'avoir 2 unités de complément dans 0,4 cm³.

Exécution de la réaction :

	Réaction	Témoin sérum	Témoin antigène
	—	—	—
Sérum à examiner	0,05	0,05	—
Antigène au 1/200	0,10	—	0,10
Eau physiologique	—	0,10	0,05
Complément 2 unités ..	0,40	0,40	0,40

Fixation du complément pendant 12 à 16 heures dans une glacière à 6—8° puis 10 minutes dans un bain-marie à 37°.

Sérum hémolytique 2 unités	0,10	0,10	0,10
Globules rouges 2 %	0,10	0,10	0,10

Mettre au bain-marie à 37°. Lire les résultats 10 minutes après la lyse complète des témoins.

Du point de vue quantitatif, on emploie la

méthode des dilutions en progression géométrique avec l'eau physiologique.

Technique du V.D.R.L. (Veneral Diseases Research Laboratory) (réaction de floculation).

a) *Réactifs :*

— antigène : solution alcoolique de cardiolipine à 0,03 % cholestérol à 0,9 % et une quantité suffisante de lécithine pour permettre l'obtention d'une réactivité standard (0,9 %).

— solution tampon : formol neutre..... 0,5 cm³
phosphate disodique, 12 H^2O 0,095 gr.
phosphate monopotassique .. 0,17 gr.
chlorure de sodium ..... 10 gr.
Eau distillée ..... 1000 cm³

b) *Suspension antigénique :*

— 0,4 cm³ de solution tampon (pH = 6).

— 0,5 cm³ de solution antigénique versée goutte à goutte en 6 secondes. Agiter circulairement 10 secondes.

— 4,1 cm³ de solution tampon. Boucher et agiter énergiquement de haut en bas.

Se conserve 24 heures

c) *Réaction :* sur lame.

— sérum inactivé : 0,05 cm³
— antigène dilué : 2 gouttes Kline

Examen au microscope après agitation de 4 minutes su l'agitateur de Kline.

Technique de Kline (réaction de floculation) :

a) antigène :

— 0,2 % de cardiolipine.
— 1,8 à 2 % de lécithine purifiée dans l'alcool absolu.

b) suspension colloïdale :

— 0,85 cm³ d'eau distillée.
— 1 cm ³ de cholestérol à 1 %. Agiter circulairement en versant le cholestérol. Boucher. Agiter doucement 20 secondes.

— 0,1 cm³ d'antigène. Boucher. Agiter énergiquement 1 minute.
— 2,45 cm³ d'eau physiologique. Agiter 1 minute.

c) diagnostic-test :

— 1 cm³ de suspension antigénique et porté au bain-marie à 37° pendant 15 minutes.

d) réaction : sur lame :

— sérum inactivé : 0,05 cm³
— antigène : 1 goutte Kline.

Examen au microscope après agitation de 4 minutes sur l'agitateur de Kline.

Du point de vue quantitatif, on emploie les méthodes de dilutions sur le sérum à examiner, dilutions en progression géométrique.

ETUDE DE LA SUSPENSION SPIROCHÉTIENNE (PALLIGNOST)

Définition : Le Pallignost est constitué par une suspension de spirochètes de la souche cultivable Reiter, phénolée à 0,3 %. Il présente la particularité d'être privé de la fraction antigénique lipoïdique ubiquitaire. En effet, Puccinelli et Pezzi ont pu montrer que certaines souches Reiter étaient dépourvues de cette fraction antigénique (inoculations intraveineuses et intramusculaires répétées donnant lieu à l'apparition dans le sérum des sujets traités, des réagines tréponémiques, mais absence de la réagine lipoïdique).

Employé pour la réaction de Wassermann, sa sensibilité est au moins égale à celle d'un extrait alcoolique d'organe. Quant à sa spécificité, ce travail va en faire l'étude.

Technique de l'Institut Sérothérapique de Milan.

L'antigène étant une suspension de spirochètes, ceux-ci sédimentent au repos. Aussi, est-il nécessaire, avant toute opération, d'agiter fortement le flacon, afin d'obtenir un minimum d'homogénéité.

Dans cette technique, on opère parallèlement avec l'antigène tréponémique et l'antigène lipoïdique car la souche Reiter employée ici, est privée de la fraction lipoïdique.

Titrage du complément :

Pallignost	*Antigène lipoïdique*
Pallignost pur : 0,20 cm³	Antigène lipoïdique dilué : 0 30 cm³
Complément au 1/10 : 0,15 à 0,80 cc.	Complément au 1/10 : 0,15 à 0,80 cc.
Sérum normal : 0,10 cm³	Sérum normal : 0,10 cm³

30 minutes au bain-marie à 37°

Système hémolytique : 1 cm³	Système hémolytique : 1 cm³

30 à 60 minutes au bain-marie à 37°

Lecture de la quantité minima de complément capable de provoquer l'hémolyse.

Le système hémolytique est constitué par le mélange normal à parties égales de globules rouges à 5 % et de sérum hémolytique au 1/5 du titre.

Exécution de la réaction :

Pallignost	*Antigène lipoïdique*
Pallignost : 0,20 cm³	Sérum à examiner : 0,10 cm³
Sérum à examiner : 0,10 cm³	Antigène lipoïdique : 0,30 cm³
Complément selon le titre.	Complément selon le titre.

30 minutes au bain-marie à 37°

Système hémolytique : 0,5 à 1 cc.	Système hémolytique : 0,5 à 1 cc.

18 heures à la température ambiante ou à la glacière, puis 30 à 60 minutes au bain-marie à 37°.

A la recherche d'une Technique personnelle

Les sérums étant testés aux réactions de Kolmer, Kline et V.D.R.L. (donc à l'antigène lipoïdique), nous avons voulu nous rapprocher de ces

réactions afin de comparer les techniques de fixation du complément. Cette expérience a nécessité, tout d'abord, un titrage d'antigène dans les conditions de la réaction, cette opération ayant pour but de connaître la dilution optimum de l'antigène à employer pour le titrage du complément et l'exécution de la réaction.

a) *Titrage de l'antigène :* la réaction d'hémolyse employant le complément au 1/50 dans le titrage du complément, on partira du même taux de dilution. (Voir les tableaux ci-après).

Le titre du complément a été calculé pour chacune des dilutions de l'antigène et ramené à 2 unités pour la réaction. Le titrage de l'antigène avec un sérum à 16 réagines Kline montre que l'optimum d'action antigénique est obtenu avec du *Pallignost pur*.

TITRAGE DU COMPLEMENT

Complément au 1/50	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30	Dilutions de complément
Antigène au 1/16	++++	++++	—	—	—	1/50
Antigène au 1/8	++++	—	—	—	—	1/66
Antigène au 1/4	++++	+++	—	—	—	1/50
Antigène au 1/2	+++	++	+	—	—	1/40
Antigène pur	++++	+++	++	—	—	1/40
Antigène X 2	++++	++++	++++	++++	++++	

TITRAGE DE L'ANTIGENE

Sérum	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	Témoin sérum	Témoin antigène
Antigène au 1/16	±	—	—	—	—	—	—
Antigène au 1/8	++	+	—	—	—		
Antigène au 1/4	++++	++++	+	—	—		
Antigène au 1/2	++++	++++	+	—	—		
Antigène pur	++++	++++	++	—	—		
Antigène X 2	++++	+	—	—	—		

b) *Titrage du complément :*

Complément au 1/50.....	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30
Eau physiologique	0,30	0,25	0,20	0,15	0,10
Antigène Pallignost	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10

60 minutes au bain-marie à 37°

Sérum hémolytique 2 unités	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Globules rouges à 2 %....	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10

60 minutes au bain-marie à 37° — lecture

Dilutions du complément à utiliser pour avoir 2 unités dans 0,4 cm³.....	1/100	1/66	1/50	1/40	1/35

On a pu obtenir les résultats suivants en comparant avec un titrage fait selon la technique de Kolmer avec l'antigène lipoïdique.

Complément	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30
Kolmer Antigène lipoïdique . .	++++	++	—	—	—
Technique personnelle	++++	+++	++	—	—

D'après ce tableau, on met en évidence un pouvoir anticomplémentaire du Pallignost supérieur à l'antigène lipoïdique. Mais le résultat intéressant

est que le titrage du complément selon la technique personnelle avec l'antigène tréponémique est possible.

c) *Exécution de la réaction :*

Sérum à examiner	0,05	0,05	
Antigène Pallignost	0,10		0,10
Eau physiologique		0,10	0,05
Complément 2 unités	0,40	0,40	0,40

Fixation du complément pendant 12 et 16 heures dans une glacière à 6—8°, puis 10 minutes dans un bain-marie à 37°.

Sérum hémolytique 2 unit.	0,10	0,10	0,10
Globules rouges 2 %	0,10	0,10	0,10

Mettre au bain-marie à 37° et lire les résultats 10 minutes après la lyse complète des témoins.

L'expérience porta sur des sérums positifs et négatifs du point de vue qualitatif en comparaison avec l'antigène lipoïdique. Le résultat ayant été concluant pour ces quelques sérums, les tests furent faits systématiquement sur tous les sérums du Service de Dermatologie.

On peut comparer les deux méthodes :

1° *Présence d'un sérum normal dans le titrage du complément* (réaction de l'Institut Sérothérapique de Milan) : les auteurs semblent avoir recherché un équilibre protéique dans ce titrage à seule fin de mettre complément et antigène dans les

mêmes conditions que dans la réaction. D'autre part, ce sérum normal, sans gêner la titration du complément, paraît avoir une action favorisante due à la présence des hémolysines naturelles propres à ce sérum, résultat d'expériences faites au Laboratoire :

Complément	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30
Pallignost :					
sans sérum	++++	++	±	—	—
avec sérum	++++	+	—	—	—
Antigène lipoïdique	++	—	—	—	—

Ici encore, on peut constater le pouvoir anticomplémentaire du Pallignost supérieur à celui de l'antigène cardiolipidique.

2° *Titrage du complément :* il s'opère en présence de quantités croissantes de complément, mais :

a) le Pallignost emploie du complément au 1/10 dans des volumes croissants qui seront utilisés tels quels dans la réaction suivant les résultats obtenus au titrage.

b) l'antigène lipoïdique : on travaille avec du complément au 1/50 et des volumes égaux par addition d'eau physiologique afin d'avoir des résultats comparables.

Interprétation des résultats par l'Institut Sérothérapique de Milan

Pallignost	Antigène lipidique	Résultats
+ + + +	+ + + +	Syphilis active.
+ + + +	— — — —	Syphilome. - Syphilis ancienne. — Syphilis récente plus ou moins soignée.
— — — —	+ + + +	Syphilis congénitale, réactions aspécifiques.
— — — —	— — — —	Réaction négative.

L'antigène lipidique employé par les auteurs italiens est représenté par un antigène empirique (extrait alcoolique de cœur de bœuf ou de veau). Leurs résultats ont été donnés alors qu'ils n'avaient fait aucun emploi du cardiolipide, ce qui est important en ce qui concerne les résultats obtenus par nous.

A la lumière de ces données, le Pallignost (technique personnelle) fut essayé systématiquement et parallèlement aux réactions de Kolmer, Kline et V.D.R.L., sur tous les sérums passés au Laboratoire.

Sur chaque sérum :

Pallignost : antigène tréponémique (hémolyse).
Kolmer : antigène cardiolipidique (hémolyse).
Kline : antigène cardiolipidique (floculation).
V.D.R.L. : antigène cardiolipidique (floculation).

6.531 sérums ont été testés, donnant :

Pallignost + + + +	2.065	6.285	6.285 en concordance.
Cardiolipide + + + +			
Pallignost — — — —	4.220		
Cardiolipide — — — —			
Pallignost + + + +	186	246	246 en discordance, soit environ 3 % des sérums testés.
Cardiolipide — — — —			
Pallignost — — — —	60		
Cardiolipide + + + +			

Sur les 4 cas possibles de résultats, deux diffèrent et ce sont ceux-là qui sont à considérer pour pouvoir conclure quant à la spécificité de l'antigène spirochétien.

PALLIGNOST : ++++

CARDIOLIPINE : ————

	Pallignost	Kolmer	Kline	V.D.R.L.	Remarques
28.172	++++	—	—	—	
R...	++++	—	—	—	
28.178	++++	—	—	—	
28.194	++++	—	—	—	
28.230	++++	—	—	—	
28.284	++++	—	—	—	
28.393	++++	—	—	—	
28.431	++++	—	—	—	
28.555	++++	—	—	—	
M...	++++	—	—	—	
29.216	++	—	—	—	
29.288	++++	—	—	—	Syphilis en traitemt
29.300	++++	—	—	—	
33. La	+++	—	—	—	
29.383	++++	—	—	—	Prénuptial
39. g	++++	—	—	—	
29.425	++	—	—	—	Syphilis traitée
29.431	++++	—	—	—	Femme enceinte
29.501	++++	—	—	—	
29.524	++++	—	—	—	
29.537	++++	—	—	—	
29.548	++++	—	—	—	
29.560	++++	—	—	—	
29.632	++++	—	—	—	
29.659	++++	—	—	—	Femme enceinte
29.660	++++	—	—	—	Femme enceinte
29.737	++++	—	—	—	
29.627	++++	—	—	—	
29.619	++++	—	—	—	
29.620	++	—	—	—	Hérédo-Syphilis
29.621	++++	—	—	—	
29.629	++++	—	—	—	
29.634	+++	—	—	—	
29.636	+++	—	—	—	
29.670	++++	—	—	—	
29.715	++++	—	—	—	
29.726	++++	—	—	—	
43. Ma	++++	—	—	—	

	Pallignost	Kolmer	Kline	V.D.R.L.	Remarques
44. Pa	++	—	—	—	Femme enceinte
45. Du	++	—	—	—	Femme enceinte
29.732	++	—	—	—	
29.799	+++	—	—	—	
30.122	++++	—	—	—	Syphilis en traitem^{t}
30.032	++++	—	—	—	Prénuptial
30.043	+	—	—	—	Syphilis traitée
30.154	++++	—	—	—	Syphilis ancienne
30.227	++++	—	—	—	Dépistage
30.230	++++	—	—	—	
30.253	++++	—	—	—	
30.255	++++	—	—	—	Syphilis traitée
30.261	++	—	—	—	Syphilis en traitem^{t}
30.271	++++	—	—	—	Syphilis en traitem^{t}
30.277	++++	—	—	—	Transfusion
30.290	++	—	—	—	
30.293	+++	—	—	—	Phlébite
70.LCR	++++	—	—	—	Tabès
30.306	++++	—	—	—	Syphilis en traitem^{t}
30.310	+++	—	—	—	Syphilis en traitem^{t}
30.311	++++	—	—	—	Syphilis en traitem^{t}
30.312	++++	—	—	—	Syphilis primaire
30.313	++++	—	—	—	Syphilis primaire
30.336	++++	—	—	—	Transfusion
30.349	++++	—	—	—	Dépistage
30.350	++++	—	—	—	Syphilis ancienne
30.360	++++	—	—	—	
30.363	++++	—	—	—	
30.368	++++	—	—	—	
B. Mar	++++	—	—	—	
30.372	++++	—	—	—	
30.413	+++	—	—	—	Syphilis en traitem^{t}
30.416	+++	—	—	—	7^{e} grossesse et trois fausses couches
30.417	++	—	—	—	
30.418	++	—	—	—	Abcès du sein
30.420	++	—	—	—	Ulcération
30.425	++	—	—	—	Observation
30.427	+++	—	—	—	Femme enceinte
30.428	+++	—	—	—	Femme enceinte
30.429	+++	—	—	—	Femme enceinte
30.430	++++	—	—	—	Femme enceinte
30.431	+++	—	—	—	Femme enceinte

	Pallignost	Kolmer	Kline	V.D.R.L.	Remarques
30.432	+ + + +	—	—	—	Femme enceinte
30.435	+ + + +	—	—	—	
30.437	+ + + +	—	—	—	
30.469	+ + + +	—	—	—	
30.475	+ + + +	—	—	—	
30.480	+ +	—	—	—	
30.482	+ + + +	—	—	—	
30.415	+ + +	—	—	—	
39.875	+ + + +	—	—	—	
39.882	+ + + +	—	—	—	
39.908	+ + + +	—	—	—	Femme enceinte
39.922	+ + + +	—	—	—	Deux avortements.
39.953	±	—	—	—	Femme enceinte
39.959	+	—	—	—	Femme enceinte
39.964	+ + + +	—	—	—	Femme enceinte
39.966	+ + + +	—	—	—	Femme enceinte
39.967	+ + + +	—	—	—	Femme enceinte
39.980	+ + + +	—	—	—	Pneumopathie
39.996	+ + + +	—	—	—	Sécurité Sociale
40.006	+ + +	—	—	—	Syphilis traitée
40.044	+ + + +	—	—	—	Sécurité Sociale
40.045	+ + + +	—	—	—	Sécurité Sociale
40.058	+ + +	—	—	—	Métrorragie
40.085	+ + + +	—	—	—	Syphilis + Pénicill.
40.104	+ + +	—	—	—	Prénuptial
40.347	+ + + +	—	—	—	
40.349	+ + + +	—	—	—	Tuberculose
40.365	+ +	—	—	—	Prophylaxie
40.357	±	—	—	—	Femme enceinte
40.403	+ + + +	—	—	—	Syphilis ancienne
40.404	+ + +	—	—	—	Syphilis ancienne
40.405	+ +	—	—	—	Syphilis ancienne
40.410	+ + + +	—	—	—	Syphilis ancienne
40.411	+ +	—	—	—	Femme enceinte
40.330	+ + + +	—	—	—	Vernes +
40.415	+ +	—	—	—	Syphilis traitée
40.418	+ +	—	—	—	Syphilis traitée
40.423	±	—	—	—	Syphilis traitée
40.448	+ +	—	—	—	Dépistage
40.457	+ + +	—	—	—	Syphilis traitée
40.458	+	—	—	—	Femme enceinte
40.461	±	—	—	—	Femme enceinte
40.463	+	—	—	—	Femme enceinte

	Pallignost	Kolmer	Kline	V.D.R.L.	Remarques
40.464	+	—	—	—	Femme enceinte
40.483	++++	—	—	—	Dépistage
40.499	++++	—	—	—	Sécurité Sociale 3
40.561	++++	—	—	—	Enrouement
40.562	++	—	—	—	Délire de persécut.
40.569	++++	—	—	—	Syphilis traitée
40.602	++++	—	—	—	
40.615	++++	—	—	—	Syphilis traitée
40.655	++++	—	—	—	Syphilis+Pénicill.
40.656	++++	—	—	—	Syphilis ancienne
40.751	+	—	—	—	Syphilis+Pénicill.
40.754	+	—	—	—	Syphilis+Pénicill.
40.756	+	—	—	—	Dépistage
40.759	+	—	—	—	Dépist. sur détenu
40.760	+	—	—	—	Dépist. sur détenu
40.769	+	—	—	—	Dépist. sur détenu
40.789	+	—	—	—	Femme enceinte
40.798	++	—	—	—	Ostéopériostite
40.799	++	—	—	—	Diabète
40.802	+	—	—	—	Hépatite
40.854	++++	—	—	—	
40.890	+	—	—	—	Femme enceinte
40.892	++	—	—	—	Femme enceinte
40.978	++++	—	—	—	
40.983	++++	—	—	—	
40.990	++++	—	—	—	
41.044	++++	—	—	—	
41.124	++++	—	—	—	
41.161	++++	—	—	—	Syphilis traitée
41.169	++++	—	—	—	Syphilis ancienne
41.203	++++	—	—	—	Syphilis traitée
41.218	+++	—	—	—	Femme enceinte
41.221	++	—	—	—	Femme enceinte
41.227	+	—	—	—	Femme enceinte
41.287	++++	—	—	—	Cordon d'enfant de mère syphilitique
41.306	+++	—	—	—	
41.345	++++	—	—	—	Sécurité Sociale
41.348	++++	—	—	—	Syphilis ancienne
41.618	++++	—	—	—	Sécurité Sociale
41.624	++++	—	—	—	Sécurité Sociale
41.629	++++	—	—	—	Sécurité Sociale
41.659	++++	—	—	—	Syphilis+Pénicill.

	Pallignost	Kolmer	Kline	V.D.R.L.	Remarques
41.663	++++	—	—	—	Syphilis ancienne
41.742	++++	—	—	—	Sécurité Sociale
41.745	+	—	—	—	Syphilis+Pénicill.
41.749	++++	—	—	—	Syphilis+Pénicill.
41.756	++++	—	—	—	Sécurité Sociale
41.757	++++	—	—	—	Sécurité Sociale
41.760	++++	—	—	—	Femme enceinte
41.924	++++	—	—	—	Douleurs gastriques
420	++	—	—	—	Syphilis traitée
422	++++	—	—	—	Syphilis traitée
433	++	—	—	—	Dépistage
442	++++	—	—	—	Syphilis ancienne
444	++++	—	—	—	Syphilis ancienne
496	++++	—	—	—	Contrôle d'un traitement
936	++++	—	—	—	Syphilis ancienne
974	++++	—	—	—	Sécurité Sociale
975	+++	—	—	—	Sécurité Sociale
1.093	++	—	—	—	Femme enceinte
1.126	++++	—	—	—	Sécurité Sociale
1.306	++++	—	—	—	Syphilis traitée
1.374	++++	—	—	—	Syphilis traitée
1.376	++++	—	—	—	Syphilis ancienne
1.501	++++	—	—	—	Syphilis ancienne
1.725	++	—	—	—	Syphilis traitée
1.886	+++	—	—	—	Syphilis traitée
1.897	++++	—	—	—	Sécurité Sociale
1.905	++++	—	—	—	Femme enceinte
1.915	++++	—	—	—	Syphilis ancienne
1.918	++++	—	—	—	Syphilis ancienne
2.239	++++	—	—	—	Femme enceinte

PALLIGNOST : ————
CARDIOLIPINE : ++++

	Pallignost	Kolmer	Kline	V.D.R.L.	Réagines
27.293	—	—	+++	+++	1/4
27.658	—	—	—	++++	1/4
27.827	—	—	—	±	
27.828	—	—	—	+	
27.932	—	—	—	+	
28.109	—	—	++++	++	
28.294	—	—	+++	++++	1/2
28.298	—	—	++++	++++	1/4
28.385	—	—	+	++	
28.890	—	—	+	++	
29.009	—	—	+++	++++	1/4
29.015	—	—	—	+	
29.086	—	—	++	+++	1/4
29.090	—	—	++	++++	1/2
29.091	—	—	+	+	
29.099	—	—	—	+	
29.108	—	+	+	++	
29.137	—	—	+	+++	
29.139	—	—	++++	+++	1/4
29.159	—	—	++++	++++	1/4
29.230	—	—	++	—	
29.238	—	—	++++	++++	1/16
29.321	—	—	+	—	
29.419	—	—	+	—	
29.447	—	—	+	+	
29.496	—	—	+++	+++	1/32
29.686	—	—	++	++++	1/2
29.687	—	—	++++	++++	1/4
29.738	—	—	+	++	1/2
29.785	—	—	++	+++	
29.997	—	—	+++	+++	1/8
30.026	—	—	+	+	1/4
30.298	—	—	—	+	
30.265	—	—	++++	++++	1/32
39.883	—	++++	++++	++	1/2
39.939	—	++++	+		
40.195	—	++++	+++	++	
40.360	—	—	+	+	
40.298	—	++++	++++	++	1/2

	Pallignost	Kolmer	Kline	V.D.R.L.	Réagines
40.302	—	++	+	+	
40.327	—	++++	++	—	
40.356	—	++++	++++	++++	1/2
40.470	—	++++	+++	+	1/2
40.657	—	++++	++	+++	
40.790	—	—	+	+	
40.805	—	++++	++++	++	1/4
40.811	—	++++	++	+	
40.870	—	++++	++++	++++	
40.907	—	—	+	+	
40.909	—	—	+	+	
40.937	—	++	++	—	
41.615	—	+	+++	+	
41.667	—	—	++	+	
41.674	—	++	++++	++++	
41.753	—	—	+	+	
41.761	—	—	++++	—	
41.823	—	+	++	+	
41.741	—	—	++++	++	1/2
41.892	—	++++	++++	++	
2.153	—	++++	++	+	

EMPLOI DANS LE DIAGNOSTIC DE LA SYPHILIS

1°. — Cas ou Pallignost (++++) et Cardiolipide (————)

Dans cette catégorie de sérums, on distingue :

35 femmes enceintes.
5 atteintes pulmonaires (tuberculose, enrouement).
3 maladies digestives (hépatites, douleurs gastriques).

a) *Femmes enceintes :* La sérologie des femmes enceintes a donné lieu pendant longtemps à des controverses au cours desquelles est née l'idée de possibles réactions « faussement positives ». On peut penser que la femme enceinte, terrain tout particulier, subit des modifications anatomiques, physiologiques et hormonales conduisant à des changements sériques qui peuvent être à la base de la positivité du Pallignost.

Actuellement, ce problème est en voie de résolution grâce à l'antigène cardiolipidique qui ne donne presque pas de « fausses positives » avec le sérum des femmes enceintes, alors que l'anti-

gène tréponémique est influencé par les modifications plasmatiques. Les 33 cas ne présentent aucun antécédent syphilitique. Ces réactions « surprises » peuvent être dues à une syphilis asymptomatique.

b) *Affections autres que la Syphilis* (atteintes pulmonaires, rougeoles, paludisme, délire de persécution, etc...) :

Cette positivité de l'antigène spirochétien dans ces affections, en présence d'une réaction lipidique négative, conduit à la conclusion de « fausses positives », cas non mentionné dans le tableau d'interprétation des auteurs italiens.

c) *Pour tous les autres cas :* les fiches examinées ont montré des antécédents syphilitiques. Ces malades, ayant été pris en charge dans le service et suivis après traitement (bismuth, arsenic, pénicilline), ont été négativés dans un temps plus ou moins court. Cette négativation devait être à la limite et le taux d'anticorps non perceptible. En effet, ces sérums repris récemment, ont donné deux tableaux sérologiques différents :

Pallignost	+	+	+	+	Pallignost	+	+	+	+
Kolmer	—	—	—	±	Kolmer	—	—	—	—
V.D.R.L.	—	—	—	—	V.D.R.L.	—	—	—	—
Kline		±			Kline	—	—	—	—

Le premier tableau met en évidence la négativation limite. Quant au second tableau, les sérums ont été soumis au test d'immobilisation des tréponèmes (test de Nelson). Cette technique, étudiée au Laboratoire par M. Pautrizel et Mlle Léglise, a le grand avantage d'être spécifique. En effet, les travaux de Nelson ont montré que les sérums syphilitiques seuls élaboraient des anticorps

flagellaires vis-à-vis des tréponèmes. Ces anticorps en présence d'un excès de complément, immobilisent les tréponèmse vivants.

Nous avons repris quelques sérums présentant les réactions du second tableau et avons obtenu les résultats suivants avec le test de Nelson :

S...	G.	Positif
V...	J.	Négatif
A...	S.	Positif
B...	J.	Négatif (28 %)
S...	P.	Positif
C...	J.	Positif
B...	L.	Positif
G...	A.	Positif
M...	R.	Négatif
R...	C.	Positif

soit 7 cas positifs sur 10 sérums testés. Il faut signaler que dans ce test d'immobilisation, un sérum est considéré positif lorsqu'il donne 50 % et plus d'immobilisaation.

Ces résultats montrent bien la sensibilité et la spécificité du test de Nelson malheureusement trop délicat et onéreux dans son exécution.

2° — Cas ou : Pallignost (— — — —) et Cardiolipide (++++)

Les sérums ayant une sérologie négative au pallignost et positive au cardiolipide, sont beaucoup plus nombreux que les précédents. L'interprétation italienne dans ce cas-là, porte à la conclusion de : « Syphilis congénitale et réactions aspécifiques ». Il faut signaler ici que l'antigène lipidique qu'ils utilisent, est un extrait alcoolique empirique.

Sur les 60 sérums relevés, on a noté :

2 tuberculoses
1 érythrodermie
1 cholécystite
1 Hansen

Tous les autres sérums sont des syphilitiques traités ou en traitement, résultat ne correspondant guère aux affirmations concernant le Pallignost.

Seule la présence d'un sérum de lèpre confirme les données italiennes, contrairement aux affirmations de Eagle et Hogan selon lesquelles l'emploi d'un antigène spirochétien avait donné de bons résultats quant à la lèpre.

Syphilis congénitale. Si l'on considère l'interprétation des auteurs italiens, ceux-ci se sont basés sur les deux faits suivants (Puccinelli, Vivarelli) (52) :

— 5 cas dont deux présentèrent la réagine antilipoïdique en l'absence des réagines antitréponémiques (D'Alessandro, Puccinelli).

— Le Pallignost est un antigène dépourvu de la fraction lipoïdique.

Il nous a été possible d'examiner 6 cas présentant des kératites. Les sérums de ces patients ont été soumis au Pallignost, Kline et Kolmer, et ont donné les résultats suivants :

	Kolmer	Kline	Pallignost
N...	—	+++	++++
N...	++	+++	++++
L....	++++	+	++++
S...	+	++	++++
V...	++++	++++	++++
P...	++++	++++	++++

Sur les 6 cas présentés, aucun n'a donné une réaction négative au Pallignost. Les résultats obtenus plaident en faveur de la présence d'anticorps antitréponémiques dans la syphilis congénitale. D'autre part, on peut dire que l'on est en présence d'une réaction immunologique certaine et non pas en face d'une réaction lipidique. Il est même possible que ce soit une réponse protéinique.

Antigène de l'Institut Sérothérapique de Milan « Delipide »

La souche employée pour l'obtention du Pallignost est une souche Reiter dépourvue de la fraction lipidique. Les milieux de culture ont rendu possible, malgré la séparation, la présence de traces de lipides. Aussi a-t-on cherché à s'assurer une délipidation parfaite par la méthode de Hardy et Gardiner. Cette méthode consiste à faire agir l'alcool, puis l'éther à basse température.

1re *opération :* Action de l'alcool rectifié absolu à — 25° en trois fois (2 heures, 4 heures, 6 heures) ; puis, centrifugation à la même température. Cette opération a pour but de délipider et en même temps de dissoudre le phénol dans l'alcool ainsi qu'éliminer l'eau.

2e *opération :* Action de l'éther rectifié à — 25° en trois fois (2 heures, 4 heures, 6 heures) ; puis, centrifugation. Cette opération sert à éliminer l'alcool résiduel.

Le culot obtenu, de couleur blanchâtre, est remis en suspension dans de l'eau physiologique jusqu'à obtention d'une concentration de tréponèmes égale à la concentration initiale. Dans ce but, un prélèvement a été fait dans le Pallignost commercial et le Palignost « délipidé », et comparé au fond noir. Pour l'antigène commercial dé-

lipidé, on constate que les tréponèmes paraissent quelque peu modifiés dans leur morphologie. Le peu de produit délipidé obtenu a été essayé sur les 4 cas de kératites étudiés dans le tableau précédent.

	Kolmer	Kline	Pallignost	Antigène « délipidé »
N...	++	++++	++++	++
L...	++++	+	++++	++++
S...	+	++	++++	++
V...	++++	++++	++++	++

Ces résultats viennent confirmer que l'on ne se trouve pas en présence d'une réaction lipidique. D'autre part, les réactions obtenues avec l'antigène « délipidé » présentent une intensité légèrement plus faible que le Pallignost commercial.

Discussion

L'étude effectuée sur l'antigène spirochétien « Pallignost » a permis de faire le point sur la valeur comparée entre l'antigène lipoïdique et l'antigène tréponémique.

Si l'on considère le Pallignost du point de vue physique, on se trouve en présence d'une suspension de spirochètes, donc non homogène. En effet, examinée au fond noir et au contraste de phase, elle présente des champs où les tréponèmes

sont agglutinés. Ceux-ci sédimentent au repos, et il est nécessaire avant l'emploi d'agiter énergiquement pour obtenir une suspension homogène. Par contre, le cardiolipide ou plutôt le mélange (cardiolipine - lécithine - cholestérol) est une solution homogène dont l'action est constante.

D'autre part, les titrages du complément ont mis en évidence un pouvoir anticomplémentaire de la suspension spirochétienne supérieur à celui de l'antigène cardiolipidique, résultat d'une adsorption sur les corps tréponémiques.

CONCLUSION

Les travaux récents sur la morphologie et la biologie du tréponème ont montré les rapports étroits qui existent entre la souche Reiter et l'agent pathogène de la Syphilis. Ceci a permis d'envisager l'emploi du tréponème Reiter dans l'étude de :

— la structure antigénique spirochétienne,
— son utilisation comme antigène tréponémique pour déceler les anticorps dans le sérum syphilitique.

Dans la mosaïque antigénique, une seule fraction (tréponémique-spécifique thermolabile) offre quelque espoir dans la recherche de l'antigène spécifique et c'est dans cette voie qu'il sera bon de persévérer.

Pour l'utilisation de ces organismes comme antigène tréponémique, c'est sous forme de suspension spirochétienne phénolée qu'a été employée la souche Reiter dans la sérologie de la syphilis. Malheureusement, sa spécificité est moins grande que celle de l'antigène cardiolipidique et on a pu constater, dans ce travail, que le Pallignost ne résout pas la question importante des réactions « faussement positives ».

Depuis 1940, avec le cardiolipine (Mary Pang-

BORN) et, tout récemment, avec le test d'immobilisation des tréponèmes (NELSON) (38), le problème de cette spécificité dans le diagnostic de la Syphilis semble trouver peu à peu une solution Il est regrettable que la technique de NELSON ne soit pas à la portée des laboratoires d'analyse courante du fait de la complexité de son exécution.

Aussi, est-il souhaitable que les chercheurs mettent au point une méthode simple mais aussi spécifique que le test d'immobilisation des tréponèmes.

Vu : *Le Doyen*,
PORTMANN.

Vu : *Le Président*,
R. SIGALAS.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 30 Juin 1952

Le Recteur de l'Académie de Bordeaux,
DELAGE.

BIBLIOGRAPHIE

1 — Beardmore, Dodd. — The growth of the Reiter strain of *Treponema pallidum* in the chick embryon. Journal of Bactrieology. 1950, *60*, 5.

2 — Beerman, Nicholas, Ford, Buerk. — Syphilis. A review of recent litterature. American Medical Association — Archives of Internal Medecine. 1951, *87*, 287.

3 Boak, Fawcett, Carpenter. — Summary of *in vitro* studies on the cultivation of *Treponema pallidum*. Symposium. Avril 1949.

4 — Boak, Fawcett, Carpenter. — Studies of the cultivation of *Treponema pallidum*. Amer.Journ. Syph.Gon.Ven. Dis. 1949, *33*, 409.

5 — Boyau (J.-C.-E.). — Tentatives de culture du Tréponème pâle. Thèse Médecine, Paris, 1950.

6 — Brewer. — A clear liquid medium for the aerobic cultivation of anaerobes. Jour. Amer. Med. Asss. 1940, *115*, 598.

7 — D'Alessandro, Puccinelli. — Comportemento dell' anticorpo antispirochetico e dell' anticorpo antilipoïdeo nei vari stadi della sifilide. Giornale di Medicina. 1944, *1*, 68.

8 — D'Alessandro, Oddo, Dardanoni, Comes. — Sulla struttura antigene del *Treponema pallidum*. Ricerche sullo stipite coltivabile di Reiter. Riv. dell' Instit. Sierot. Ital. 1949, *24*, 11, 3.

9 — D'Alessandro, Oddo. — Antigeni spirochetici e sierologia della sifilide.
Riv. dell' Instit. Sierot. Ital. 1948, *23*, 1.

10 — D'Alessandro, Oddo, Dardanoni. — The Antigens of cultured *Treponema pallidum* (Reiter's strain) and the antispirocheral antibodies in human syphilis.
Journ. of Ven Dis. Inform. 1950, *31*, 314.

11 — De Lamater, Newcomer, Haanes, Wiggall. — Studies on the life cycles of spirochètes. I. The use of phase contrast microscopy.
Amer.Journ. Syph.Gon.Ven. Dis. 1950, *34*, 122-125.

12 — De Lamater, Newcomer, Haanes, Wiggall. — Studies on the life cycles of spirochetes. II. The development of a new strain.
Amer.Journ. Syph.Gon.Ven. Dis. 1950, *34*, 515-518.

13 — De Lamater Newcomer, Haanes, Wiggall. — Studies on the life cycle of spirochetes. III. The life cycle of the Nichols pathogenic *Treponema pallidum* in the rabbit testis as seen by phase contrast microscopy.
The Journ. Exper. Medec. 1950, *92*, 239-246.

14 — De Lamater, Wiggall, Haanes. — Studies on the life cycle of Spirochetes. IV. The life cycle of the Nichols pathogenic *Treponema pallidum* in the rabbit testis as visualized by means of stained smears.
The Journ. Exp. Medec. 1950, *92*, 247-252.

15 — De Lamater, Wiggall, Haanes. — Studies on the life cycle of spirochetes. V. The life cycle of the Nichols non pathogenic *Treponema pallidum* in culture.
Amer. Journ. Syph.Gon.Ven. Dis. 1951, *35*, 164-179.

16 — De Lamater, Haanes, Wiggall. — Studies on the life cycle of spirochetes. VI. The life cycle of the Nichols non pathogenic *Treponema pallidum* in the embryonated hen's egg.
Amer. Journ. Syph.Gon.Ven. Dis. 1951, *35*, 180-188.

17 — De Lamater, Haanes, Wiggall. — Studies on the life cycle of spirochetes. VII. The life cycle of the Kazan non pathogenic *Treponema pallidum* in culture.
Amer. Journ. Syph.Gon.Ven. Dis. 1951, *35*, 216-224.

18 — De Lamater, Haanes, Wiggall, Pillsbury. — Studies on the life cycle of spirochetes. VIII. Summary and comparison of observations on various organisms.
The Journ. Investig. Derm. 1951, *16*, 231-256.

19 — Eagle, Steinman. — The nutritional requirements of Treponema.
Journ. Bact. 1948, *56*, 163.

20 Eagle, Hogan. — On the presence in syphilitic serum of antibodies to spirochetes, their relation to socalled Wassermann reagin and their signifiance for the serodiagnosis of syphilis.
Journ. Exp. Med. 1940, *71*, 215.

21 — Eagle, Germuth. — Serologic relationships between five cultured strains of supposed *Treponema pallidum* (Noguchi, Nichols, Kroo, Reiter and Kazan) and two strains of mouth Treponemata.
Journ Imm. 1948, *60*, 223.

22 — Erikson, Volkin, Craig, Cooper, Neurath. — Biologic false positive reactions in serologic tests for syphilis. II. Preparation and properties of serologically active serum euglobulin fractions obtained by iso-electric precipitation.
Amer. Journ. Syph.Gono.Ven. Dis. 1947, *31*, 374.

23 — Gaethgens. — Uber die antigene Wirkung von Pallidasuspensionem in carbolisierter Kochsalzösung.
Med. Klin. 1929, *25*, 1, 24.

24 — Gaetugens. — Die biesherigen Erfahrungen mit der Pallidareaktion zum serologischen Luesnachweis.
Arch. Dermat. Med. Syph. 1937, *176*, 42.

25 — Gelperin (A.). — Morphology, cultural characteristics and a method for mass cultivation of the Reiter spirochete.
Amer. Journ. Syph.Gon.Ven. Dis. 1949, *33*, 101.

26 — Gelperin (A.). — Immunochemical studies of the Reiter spirochete.
Amer. Journ. Syph.Gono.Ven. Dis. 1951, *35*, 1.

27 — Haanes, Wiggall, De Lamater. — Observations on the growth of the non pathogenic Kazan strain of *Treponema pallidum* in embryonated hens' eggs of various age.
Amer. Journ. Syph.Gon.Ven. Dis. 1951, *34*, 214.

28 — Kast, Kolmer. — Concerning the cultivation of spirocheta pallida.
Amer. Journ. of Syphilis. 1929, *13*, 419.

29 — Kolmer, Kast, Lynch. — Studies on the role of spirocheta pallida in the Wassermann reaction. The relation of spirochetal antibodies to the Wassermann reagin.
Amer. Journ. Syph.Gon.Ven. Dis. 1941, *25*, 412.

30 — Lépine (Pierre). — Le Tréponème pâle est-il virulent ?
La Presse Médicale, 19 Août 1950, *66*, 1233.

31 — Little, Subbarow. — Use of refined serum-albumine as a nutrient for *Treponema pallidum*.
The Journ. of Immunol. 1945, *50*, 213.

32 — Meneghini (C.-L.). — Comportamento del anticorpi antitreponemici e antilipoïdeo nella sifilide nervosa.
Giorn. Ital. d Derm. e Sifil. 1951, 2, 103.

33 — Mohr, Moore, Nelson, Hill. — Studies on the relationship of the Treponemal antibody to probable biologic false positive serologic tests for syphilis.
Amer. Journ. Syph.Gon.Ven. Dis. 1950, *34*, 405.

34 — Morton, Anderson. — Some morphologic features of the Nichols strain of the *Treponema pallidum* as revealed by the electron microscope.
Amer. Journ. Syph.Gon.Ven. Dis. 1942, *26*. 565.

35 — Morton, Rake, Rose. — Electron microscope studies of Treponemes. III. Flagella.
Amer. Journ. Syph.Gon.Ven. Dis. 1951, *35* 503.

36 — Mudd, Polevitzky, Anderson. — Bacterial morphology as shown by the electron microscope.
Arch. Path. 1942, *34*, 199.

37 — Nelson (R.A.). — Factors affecting the survival of *Treponema pallidum in vitro.*

38 — Nelson, Mayer. — Immobilisation of *Treponema pallidum in vitro* by antibody produced in syphilitic infection.
Journ. Exp. Med. 1949, *89*, 369.

39 — Nelson, Steinman. — Factors affecting the survival of *Treponema palliduc in vitro.*
Proceed. Soc. Exp. Biol. and Med. 1948, *68*, 588.

40 — Neurath, Volkin, Erickson, Craig. — Biologic false positive reactions in serologic tests for syphilis. — I. Preparation and properties of serologically active serum globulin fractions obtained by fractional precipitation with sulfate ammonium.
Amer. Journ. Syph.Gon.Ven. Dis. 1947, *31*, 347.

41 — Neurath, Volkin, Craig, Erickson. — Biologic false positive reactions in serologic tests for syphilis. — V. A preliminary survey analysis with the euglobulin inhibition methods for the serologic differentiation between true and biologic false positive reactions.
Amer. Journ. Syph.Gon.Ven. Dis. 1947, *31*, 436.

42 — Newcomer, Haanes. — Observations on the growth of the non pathogenic Nichols strain of *Treponema pallidum* in the embryonated chick egg under anaerobic conditions.
Amer. Journ. Syph.Gon.Ven. Dis. 1949, *33*, 318.

43 — Oddo, D'Ambrosio. — Sugli anticorpi antispirochetici nella sifilide umana. Ulteriori ricerche sull' esistenza nelle spirochete dell ceppo Reter degli antigeni treponema specifici cottolabile e cottostabile.

Boll. della Soc. Ital. di Biol. Sperimentale. 1947, *XXIII*, 8.

44 — Oddo, Dardanoni. — Sugli anticorpi antispirochetici nella sifilide umana. Coltivazione di spirochete del ceppo Reiter e allestimento di antigene tipo Palligen.

Boll. della Soc. Ital. di Biol. Sperimentale. 1947, *XXIII*, 6.

45 — Olivetti. — La reattivita anticorpogenatica specifica del sifilide sotto stimolazione treponemico (ceppo-Reiter). Giorn. Ital. di Dermat. e Sifil. 1951, *1*, 20.

46 — Perry. — The cultivation of *Treponema pallidum* in tissue culture.
Journ. o Path. and Bact. 1948, *60*, 339.

47 — Puccinelli (Vittorio). — La plurita degli anticorpi nel siero del sifilitico e sua importenza nella pratica clinica. 38° Congresso della Societa Italiana di Dermatologia e Sifilografia. 6, *XII*, 1951.

48 — Puccinelli, Rio Pezzi. — Il significato ed il comportamento degli anticorpi antitreponemici ed antilipoïdeo del siero dei luetici nella pratica clinica.
Giorn. Ital. di Derm. e Sifil. 1949.

49 — Puccinelli (Vittorio). — Il comportamento dell' anticorpo antitreponemico e dell' anticorpo antilipoïdeo durante il trattamente della sifilide recente.
Giorn. Ital. di Derm. e Sifil. 1946 *I*.

50 — Puccinelli, Oddo. — Contributo allo studio della reagine del siero del sifilitico.
Giorn. Ital. di Derm. e Sifil. 1946, *VI*.

51 — Puccinelli, Bellone. — La formazione ed il comportamento degli anticorpi treponemici e lipoïdeo nell' nomo per l'introduzione di spirochete (ceppo coltivabile di Reiter).
Giorn. Ital. di Derm. e Sifil. 1949.

52 — Puccinelli, Vivarelli. — Contributo allo studio della sierologia della sifilide congenita.
Giorn. Ital. di Derm. e Sifil. 1950, fasc. VI.

53 — Puccinelli (Vittorio). — Le comportement desréagines du sérum des syphilitiques vis-à-vis du Tréponème de Reiter.
Colloque Internat. sur la Syphil. Paris, Sept.Oct. 1950.

54 — Reiter. — Uber Fortzüchtung von Reinkulturen der Spirochaeta pallida, Spirochaeta dentium und spirochaete recurrens.
Klinische Wochenschrift. 1926, 5, 444.

55 — Rose Morton. — Cultivation of *Treponema pallidum* with morphologic characters.
Amer. Journ. Syph.Gon.Ven. Dis. 1952, *36*, 1.

56 — Rose, Morton. — The morphologic variation of Treponema.
Amer. Journ. Syph.Gon.Ven. Dis. 1952, *36*, 17.

57 — Rowe, Curtis. — Studies of the life and mobility of *Treponema pallidum* in Fertile hen's eggs.
Symposium, Avril 1949.

58 — Scott, Rein, Schamberg, Moore, Eagle. — The serologic differentiation of syphilitic and false positive sera.
Amer. Journ. Syph.Gon.Ven. Dis. 1945, 29, 505.

59 — Simon, Mollinedo. — Diagnostic de la syphilis par la recherche du Granule spirochétogène.
La Presse Médicale, 21 Mai 1940, *46*, 515.

60 — Simon, Mollinedo. — A propos du Granule spirochétogène.

61 — Volkin, Neurath, Craig, Durham. — Biologic false positive reactions in serologic tests for syphilis. — IV. Quantitative aspects of the inhibition phenomenon. Amer. Journ. Syph.Gon.Ven. Dis. 1947, *31*. 413.

62 — Volkin, Neurath, Craig, Erickson. — Biologic false positive reactions in serologic tests for syphilis. — III. Separation ad properties of serum protein fractions which inhibit biologic false positive reactions. Ame. Journ. Syph.Gon.Ven. Dis. 1947, *31*, 397.

63 — Wile, Kearney. — The morphology of *Treponema pallidum* in the electron microscope. Journ. Amer. Med. Ass. 1943, *122*, 137.

64 — Wile, Picard, Kearney. — The morphology of Spirocheta pallidum in the electron microscope. Journ. Amer. Med. Ass. 1942, *119*, 880.

65 — Willcow (M.D.). — Perspectives in Venereology 1950. Bulletin of Hygiena. 1951, *26*, 101.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION 15

Documents photographiques (en hors-texte).

PREMIERE PARTIE

Etude et mise au point sur la souche Reiter

Historique 17
Morphologie et cycle évolutif 19
Culture de la souche Reiter 31
Structure antigénique et réponse de l'organisme humain 45

DEUXIEME PARTIE

Utilisation du Tréponème Reiter en Sérologie

Le problème antigénique 53
Etude de la suspension spirochétienne (Pallignost) 61
Emploi dans le diagnostic de la syphilis..... 77

CONCLUSION 85

BIBLIOGRAPHIE 87